

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA



TESIS DOCTORAL

Pupilometría dinámica mesópica:
valores patrón y su variación con el efecto del alcohol

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Luis-Lucio Lobato Rincón

Directores

Celia Sánchez-Ramos Roda
Antonio Murciano Cespedosa

Madrid, 2015

PUPILOMETRÍA DINÁMICA MESÓPICA: VALORES PATRÓN Y SU VARIACIÓN CON EL EFECTO DEL ALCOHOL



MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR:

LUIS-LUCIO LOBATO RINCÓN

DIRIGIDA POR:

CELIA SÁNCHEZ-RAMOS RODA

ANTONIO MURCIANO CESPEDOSA

Universidad Complutense de Madrid

Madrid, 2014

Dña. Celia Sánchez-Ramos, profesora titular del Departamento de Óptica II: Optometría y Visión de la Facultad de Óptica y Optometría de la Universidad Complutense de Madrid.

D. Antonio Murciano Cespedosa, profesor titular del Departamento de Matemática Aplicada (Biomatemática) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid.

AUTORIZAN

La presentación de la Tesis Doctoral titulada: **“Pupilometría dinámica mesópica: valores patrón y su variación con el efecto del alcohol”**, realizada por D. Luis-Lucio Lobato Rincón, bajo nuestra inmediata dirección y supervisión, para su evaluación y la obtención del grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, se expide y firma el presente certificado en Madrid, 17 de octubre de 2014.

Fdo.: Dra. Celia Sánchez-Ramos

Fdo.: Dr. Antonio Murciano Cespedosa

*“Man may either blush or turn pale when emotionally agitated,
but his pupils always dilate”.*

Irene Loewenfeld (1958)

*“El ser humano puede enrojecer o palidecer cuando está emocionalmente agitado,
pero sus pupilas siempre dilatan”.*

Irene Loewenfeld (1958)

AGRADECIMIENTOS

Una vez llegados al final del comienzo de algo, sólo queda dar las gracias a quienes me ayudaron a caminar hasta aquí.

En primer lugar, gracias a mi madre por hacer posible mi salud, bienestar y educación. En gran parte de lo que hace, me ha demostrado el valor de la persistencia y la constancia. Gracias también a mi hermana por haberme enseñado a practicar la fraternidad y a estar pendiente de todos para cuidarnos. Gracias a Erica, porque en este camino me he perdido a veces, y me ha apoyado siempre de forma incondicional y gracias porque me ha enseñado dos de los lenguajes más bellos... Gracias a mi tía Chus, mi tío Antonio, mis primos Carlos, César y David, y primas que han venido luego, como Sandra y Trini, porque, entre otras cosas, una comida con ellos me hace recuperar la energía perdida, y su atención es impagable. Gracias, por supuesto, a mi familia italiana, en especial a Tiziana por su acogimiento y calidez, y también a Anna, Gino, Fabio y Andrea, entre otros, por lo atentos que se han mostrado siempre. Gracias a los que no están, como mi abuela y mi padre, porque sus enseñanzas y valores me llegaron muy hondo y les veo reflejados en mí en múltiples ocasiones.

Además, si he llegado hasta aquí, es porque he necesitado nutrirme de algo especial que me ha sido proporcionado tanto en la Facultad de Óptica de la UCM, como en la empresa *Factoría I+D S.L.* y en el Grupo de Neuro-Computación y Neuro-Robótica de la UCM, con compañeras y compañeros que me han ayudado a formarme como científico y como persona.

En primer lugar, gracias, Celia, por tus conocimientos, ímpetu, claridad de ideas, organización, exigencia, capacidad de perdonar y el amor que destilas. Gracias, Antonio, por tus reflexiones, conocimientos, por el acogimiento en tu despacho, por tu cariño hacia mi padre... y por tus cafés intensos. Gracias a Mamen, Juanjo, Eva, Alicia, Cristina, Guille, Carlos, Alberto, Trini, Enrique, Sergio, Celia Herrera, Abel, Fernanda, María Jesús, Antonio Langa, Paloma, Fivos, Liav, Marcos, Elena, Álvaro... Sois muchos aunque me resulta fácil recordaros a todos con mucho agradecimiento y cariño.

Gracias igualmente a mis apreciadas Alice y Victoria por sus traducciones en todo este tiempo, así como a los entrañables Liza y Gareth. También me gustaría agradecer la ayuda, colaboración y consejos del neurólogo David Pérez Martínez y de su equipo de la Sección de Neurología del Hospital Público Infanta Cristina de Parla.

Asimismo, también querría agradecer su colaboración tanto a la Asociación de Familiares de Alzheimer de Parla como a la Universidad de Mayores de la UCM a los que agradezco enormemente su ayuda. Gracias también a Sergio Curto y Melody que me han ayudado en estos tiempos de manera especial. Además, para las medidas luminosas y el calibrado de luces conté con la ayuda de Javier Muñoz Luna y le agradezco igualmente su inmenso apoyo.

Por último, gracias a todos mis amigos y amigas por los momentos que me han regalado hasta llegar aquí. Son parte de mí la gente de mi barrio, como Alberto, Laura Aragonés, Juanlu, Edu, Julio, Tere, Mónica, Patricia... Los momentos con ellos han sido impagables. Además, la cantidad de personas que he conocido a lo largo del camino y que todavía continúan, son innumerables y, por tanto, no podría incluirlos a todos, a pesar de su importancia: los compañeros del restaurante *Carpaccio* y de *Starbucks*, los trabajadores de *Proyecto Hombre*, los amigos que conocí en la Facultad de Psicología de la UAM, aquellos que conocí en Irlanda, la asociación *Phoenix 7* con Rubén y Lucía a la cabeza, la revista *El Pisapapeles* con Jorge como gran apoyo, mis alumnos y sus familias... Todos los nombres no cabrían en estas líneas. Les agradezco desde aquí su compañía y su apoyo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	4
2 ÍNDICE DE ABREVIATURAS	11
3 SUMMARY	13
3.1 INTRODUCTION	13
3.2 MATERIAL AND METHODS	16
3.3 RESULTS.....	18
3.4 DISCUSSION.....	20
4 INTRODUCCIÓN	24
4.1 ANATOMO-FISIOLOGÍA: SISTEMA NERVIOSO	24
4.1.1 Sistema nervioso	24
4.1.2 Sistema nervioso autónomo	26
4.2 ANATOMO-FISIOLOGÍA: SISTEMA VISUAL	37
4.2.1 Globo ocular	38
4.2.2 Retina	38
4.2.3 Nervio óptico.....	42
4.2.4 Núcleos de las aferencias retinianas a partir del tracto óptico.....	43
4.2.5 Corteza visual primaria.....	48
4.2.6 Cortex visual de alto orden	49
4.2.7 Mecanismos de feedback y feedforward.....	50
4.3 PUPILA	51
4.3.1 Conceptos básicos y anatomía	51
4.3.2 Esquema embriológico.....	52
4.3.3 Parámetros pupilares	54
4.3.4 Metodología para medición de la respuesta pupilar	60
4.3.5 Influencia del sistema nervioso autónomo en la pupila	66
4.3.6 Lesiones en las vías pupilares.....	69

4.3.7	Aplicaciones de las medidas pupilares.....	71
4.4	CONDICIONES DE ILUMINACIÓN COMO FACTOR DE CAMBIO EN EL SISTEMA VISUAL..	84
4.4.1	Conceptos básicos: luz y sus tipos.....	84
4.4.2	Condiciones ambientales de iluminación y su relación con el sistema visual humano	87
4.5	LA EDAD COMO FACTOR DE CAMBIO EN EL SISTEMA VISUAL.....	90
4.5.1	Efecto de la edad sobre el sistema visual.....	90
4.5.2	Biomarcadores en el estudio de la salud y el envejecimiento	92
4.6	INGESTA DE ALCOHOL COMO FACTOR DE CAMBIOS EN EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA VISUAL.....	94
4.6.1	Conceptos básicos.....	94
4.6.2	Epidemiología de la ingesta de alcohol.....	94
4.6.3	Cambios fisiológicos por ingesta de alcohol	97
5	JUSTIFICACIÓN	104
6	HIPÓTESIS.....	105
6.1	HIPÓTESIS CONCEPTUAL	105
6.2	HIPÓTESIS FISIOLÓGICA.....	105
7	OBJETIVOS.....	106
7.1	OBJETIVOS GENERALES	106
7.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	106
8	MUESTRA, MATERIAL Y MÉTODOS	107
8.1	MUESTRA.....	107
8.1.1	Características de persona. Experimento I.....	107
8.1.2	Características de persona. Experimento II.....	107
8.1.3	Criterios de inclusión y exclusión. Experimento I.....	108
8.1.4	Criterios de inclusion y exclusión. Experimento II.....	108
8.2	MATERIAL.....	109
8.2.1	Pupilómetro.....	109
8.2.2	Radiómetro y espectrómetro	110

8.2.3	Filtros.....	111
8.2.4	Fuente luminosa estimuladora	112
8.2.5	Test de Ishihara	112
8.2.6	Etilómetro.....	113
8.2.7	Cuestionarios de recogida de datos	113
8.2.8	Archivo de protección de datos	114
8.2.9	Software	114
8.3	MÉTODO.....	115
8.3.1	Consentimiento informado.....	115
8.3.2	Diseños de los experimentos	116
8.3.3	Ubicación y temporalidad de los experimentos: Características	116
8.3.4	Protocolos de actuación de los experimentos.....	117
8.3.5	Variables analizadas	121
8.3.6	Metodología estadística	122
9	RESULTADOS	124
9.1	EXPERIMENTO I: RESULTADOS.....	124
9.1.1	Características muestrales	124
9.1.2	Diámetro pupilar basal mesópico: análisis.....	124
9.1.3	Efectos de los factores longitud de onda y edad y su interacción para las variables del reflejo pupilar mesópico (RPL) a estímulos luminosos	127
9.1.4	Efecto de la longitud de onda para las variables del RPL mesópico según los grupos de edad.....	130
9.1.5	Efecto de la edad sobre las variables del RPL mesópico según las distintas luces estimulantes.....	135
9.2	EXPERIMENTO II: RESULTADOS.....	139
9.2.1	Nivel de alcoholemia	139
9.2.2	Influencia del consumo de alcohol en el incremento del diámetro pupilar basal.....	141
10	DISCUSIÓN.....	146

10.1	Experimento I. Variaciones del RPL mesópico debidas a la longitud de onda del estímulo luminoso y a la edad.....	146
10.2	Experimento II. Variaciones del incremento del diámetro pupilar basal mesópico según consumo progresivo de alcohol.....	153
10.3	Líneas de investigación de futuro y limitaciones del estudio	157
10.3.1	Líneas futuras de investigación del experimento I. Variaciones del RPL mesópico debidas a la longitud de onda del estímulo luminoso y a la edad.....	157
10.3.2	Experimento I. Limitaciones.	158
10.3.3	Líneas futuras de investigación del experimento II. Variaciones del incremento del diámetro pupilar basal mesópico según consumo progresivo de alcohol.....	159
10.3.4	Experimento II. Limitaciones	160
11	CONCLUSIONES	162
12	BIBLIOGRAFÍA	163
13	ANEXOS	198
13.1	INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA.....	198
13.2	CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	201
13.3	ESPECIFICACIONES POWER REFRACTOR II	203
13.4	CUESTIONARIO ANAMNESIS	204
13.5	CUADERNO DE CARGA CABANILLAS SOFTWARE	205

1 ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A

AMPA = Receptor ionotrópico de glutamato de ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico.

C

CGRm= Células ganglionares retinianas melanopsínicas

CIE= Comisión Internacional de la Energía

E

EA= Enfermedad de Alzheimer

EW= Núcleos Edinger-Westphal

I

ipRGCs= Células ganglionares retinianas intrínsecamente fotosensibles (el acrónimo se debe a sus siglas en inglés).

L

LC: Locus coeruleus

LC-NA: Locus coeruleus-Sistema noradrenérgico

N

NGL= Núcleo geniculado lateral

NTS = Núcleo del tracto solitario

NOP = Núcleo Olivar Pretectal

NMDA = Receptor ionotrópico de glutamato N-metil-D-aspartato

P

PET = Tomografía de emisión de positrones

R

RPL= Reflejo Pupilar a la Luz

RAPD= Defecto de Pupila Relativo Aferente

S

SNA= Sistema Nervioso Autónomo

SNC= Sistema Nervioso Central

SNE= Sistema Nervioso Entérico

SNPS= Sistema Nervioso Parasimpático

SNS= Sistema Nervioso Simpático

SNSO= Sistema Nervioso Somático

SNEND= Sistema Nervioso Neuroendocrino

SPECT = Tomografía computerizada de emisión monofotónica

V

V1= Corteza visual primaria o corteza calcarina

V2= Corteza visual secundaria o corteza pre-estriada

2 SUMMARY

2.1 INTRODUCTION

The autonomic nervous system, mostly motor nerves, controls functions of involuntary smooth muscles, cardiac muscles, and glands. The autonomic nervous system provides almost every organ with a double set of nerves - the sympathetic and parasympathetic. These systems generally, but not always, work in opposition to each other (Gibbins, 2013). The sympathetic system activates and prepares the body for vigorous muscular activity, stress, and emergencies, while the parasympathetic system lowers activity, operates during normal situations, permits digestion and conservation of energy.

These two branches also control both dilator and sphincter muscle, that regulate pupil aperture (Heller, Perry, Jewett, & Levine, 1990). Pupil aperture is a hole located in the center of the iris of the eye that allows light to enter the retina. The function of the iris and its response to light in man has been of great interest to both physiologists and neurologists who wanted to establish the neural pathways involved in the control of the pupil response, as well as to physicists and biological engineers who have often described the pupil light reflex (PLR) as a beautiful example of a closed-loop servomechanism, in which the size and responsiveness of the human pupil is governed by the antagonistic actions of the dilator and sphincter muscles in the iris (Barbur, 2004).

The function of the iris mechanism has been seen primarily to adjust retinal illuminance with changes in ambient light, although this has often been recognized as a useful simplification. In fact, several factors are known to affect pupil size, including the level of retinal illuminance (Wyatt & Musselman, 1981), but also the acomodative state of the eye (Kasthurirangan & Glasser, 2005), and various sensory and emotional conditions (Laeng, Sirois, & Gredebäck, 2012).

Basically, the pathway controlling pupillary light reflex (PLR) involves the retina, optic nerve, optic chiasm, and the optic tract fibers that join the brachium of the superior colliculus, which terminate in the pretectal area of the midbrain, which sends most of its axons bilaterally in the posterior commissure to terminate in the Edinger-Westphal nucleus of the oculomotor complex, which contains parasympathetic preganglionic neurons and sends its axons in the oculomotor nerve. These axons

terminate in the ciliary ganglion, which, in turn, sends its parasympathetic postganglionic axons in the short ciliary nerve, ending on the iris sphincter.

In spite of the well known optic ways, the often circuitous involvement of a large number of neural pathways in controlling the movements of the iris, makes the pupil a rich source of information, but it also ensures that its secrets are hard to unravel. Pupilar pathways go beyond visual pathway and include also projections to locus coeruleus – noradrenergic system, suprachiasmatic nucleus and pretectal nuclei. Moreover, so far, the presence of numerous uncorrelated signals in the pupil have made it difficult the extraction of other small signals that can reflect important retinal and cortical processing of visual information.

Historically, pupil diameter has been measured by employing motion picture photography (Kahnemann & Beatty, 1967). Recent advances in instrumentation and data processing have generated renewed interest in pupil research. Recent technologies employ high-resolution infrared-sensitive video cameras that allow continuous monitoring of the dynamic changes in pupil diameter (Leon-Sarmiento, Prada, & Gutiérrez, 2008). Then, the output of the videocamera is sent to a hardware interface that contains pattern recognition circuits that automatically determine the boundary of the pupil in the video image, and the analogic signal is digitized and stored on computer for later analysis.

It is, therefore, a technology that provides many advantages. Due to this technologic progress, many clinical, neuro-ophtalmological and pharmacological studies have attempted to establish the usefulness of the pupil in diagnosing lesions of the visual pathways and the normal functioning of the retina (Wilhelm & Wilhelm, 2003). For these reasons, pupil light reflex can be used as a non-invasive, ocular predictor for cephalic autonomic nervous system integrity (Fion Bremner, 2009).

On the other hand, spectral sensitivity of the pupil reflex response has increasingly become of interest (Adrian, 2003; Viénot, Bailacq, & Rohellec, 2010), due, basically, to the discovery of melanopsin-expressing intrinsically photosensitive ganglion cells (ipRGCs), which contributes significantly to light-evoked pupillary responses (Viénot, Brettel, Dang, & Le Rohellec, 2012). In fact, certain studies have evaluated the influence of some monochromatic lights (blue and red) in relation to age (Daneault et al., 2012), and in relation to certain neurodegenerative diseases (Léon, Crippa, Borruat, & Kawasaki, 2012; Moro, Rodriguez-Carmona, Frost, Plant, & Barbur, 2007).

This thesis implies the pupillometric measure in mesopic conditions. Mesopic luminance region lies between scotopic and photopic regions and its light conditions have been established between 0.005 cd/m^2 and 5 cd/m^2 (CIE, 2010).

Together with the light conditions, age is another factor of relevant interest. Although not all functions in human vision change with age, some changes are present. For example, anatomically, there is 40% loss of axons of ganglionar neurons with age (Neufeld & Gachie, 2003) and, functionally, medium and high frequency sensitivity is reduced with age (Sekuler, Owsley, & Hutman, 1982), as well as spatial integration (Billino, Bremmer, & Gegenfurtner, 2008; Roudaia, Bennett, & Sekuler, 2008) and optic flow (Atchley & Andersen, 1998). In contrast, no big changes have been discovered in the occipital area of the brain (Raz et al., 2004).

Moreover, this thesis consists also in an experiment that valorates the influence of alcohol on the pupil response. The most common mode of sustaining an alcohol-attributable injury is from a single occasion of acute alcohol consumption (Taylor et al., 2010). Precisely given the fact that alcohol consumption causes injury in a dose-response manner, detection of blood alcohol concentrations can be utterly useful. Efforts to reduce and/or prevent drinking both on an individual level and a population level are important. Likewise, early detection on roads and highways would be a powerful way to ameliorate its losses.

Among the methods of ethanol detection that have recently been invented are tissue spectroscopy, transdermal alcohol monitoring and vehicle-based impairment detection using multiple sensors (Pollard, Nadler, & Stearns, 2007). In fact, so far, only a few studies have explored the relationship between pupil reflex measures and drug consumption, concretely, alcohol intoxication. Thus, pupillometry can contribute to the large body of pupillometric research exploring a possible complementary diagnosis for alcohol consumption in relevant areas as traffic safety.

Therefore, potential differences in pupillary behaviour amongst ages and different levels of alcohol could provide additional diagnostic information correlating to the status of cephalic autonomic nervous system function. In one hand, depending on age, any pupillary dysfunction could come from either physiological or pathological origin as phasic and, specifically, tonic changes in pupillary light reflex are a general indicator reflecting autonomous arousal (Aston-Jones & Cohen, 2005). On the other hand, differences shown between different levels of alcohol could be used as an alcohol consumption level indicator and even validate pupillometry as complementary method to breathalyzer and other drug tests.

Our hypothesis was that such factors as age and ingestion of alcohol will alter the different variables of the PLR. Therefore, the basic aim of the whole study was to analyse the pupil's behaviour and show the functional integrity of the cephalic autonomic nervous system depending on age, wavelength of light and alcohol consumption. Specifically, the aim of the first experiment was to evaluate basal pupil diameter and mesopic PLR parameters produced by luminous stimuli of different wavelength in order to achieve a normative database divided into age groups. Moreover, in the second experiment, our aim was to evaluate basal pupil diameter and mesopic PLR parameters produced by luminous stimuli of different wavelength in a young sample, whose responses would depend on different levels of alcohol consumption.

2.2 MATERIAL AND METHODS

Before giving consent to participate, all subjects were informed about the study protocol. In the first experiment, ninety seven caucasian volunteers (40 men; 57 women), aged 16-78 years, of good ocular and general health were then examined. The sample was divided into two groups according to their age: younger adults [N=71 (28 men; 43 women); age range: 16-45 years; mean and standard deviation: 26.10 and 7.2 years]; older adults [N=26 (11 men; 15 women); age range: 46-78 years; mean and standard deviation: 58.34 and 9.1 years]. The cut-off age for the groups was based on potential increase of lens changes due to oxidative stress as reported in the literature (Kaur, Kukreja, Kaur, Malhotra, & Kaur, 2012; Petrash, 2013; Prokofyeva, Wegener, & Zrenner, 2013).

On the other hand, in the second experiment, 19 young subjects were asked to participate in a session with a progressive consumption of alcohol (mean age and its standard deviation were 25.57 and 6.2 years). In each episode with alcohol intake, participants were asked to consume 27.5 ml of alcohol in 60 minute intervals for four hours.

Regarding the registration method, in both experiments, pupil diameter was monitored with the dynamic binocular Pupilometer Power Refractor II (Plusoptix, Germany). Vertical and horizontal pupil diameters (mm) were measured using the PR's edge-detection algorithm. Data was obtained every 0.04s (25 measurements per second), and analysed using a specially-designed software application (Cabanillas software), developed in java swing code (Sun Microsystems, USA), that parses the data and calculates the required variables into compiled CSV files. The algorithmic

method of the datapath uses backtracking, which allows optimum data finding and non-matching data rejection, such as invalid measurements and noise.

Variables selected in the Cabanillas' program were: a) Basal pupil diameter (mean pupil size from second 0 until immediately before stimulus emission, mm); b) Latency (time before constant reaction to light stimulus, ms); c) Amplitude of response (difference before light emission and maximum constriction, mm); and, d) Velocity of constriction (maximum speed during pupil constriction). The second experiment only used the increase of the basal pupil diameter (mm) as variable. This variable represented the difference between basal pupil diameter with alcohol consumption and basal pupil diameter without alcohol consumption.

The light source used for the whole study was the Mecablitz 60 CT-1 (Metz, Germany) flash, with a color temperature of 5600°K, completely covered by an opaque surface, except for a central 3mm² area, in order to obtain point light source. The duration of each light stimulus was 200 msec that is shorter than the average latency of the pupillary light-reflex. This light source was connected to the PC's parallel port by an assembler with a PIC16F630/676 microcontroller (Microchip Technology, USA), thus enabling registration of an event as the instant in which the light is emitted.

Blue (450nm), green (510nm) and red (600nm) monochromatic lights were obtained by the use of narrow frame-mounted interference band-pass filters (Edmund Optics, New Jersey, USA). These wavelengths are representative of the three bands in which visible spectrum is divided (short=blue, medium=green; long=red) and reproduce the effect of the photons' energy, tissue penetration and biological effects (Wu, Seregard, y Algvere, 2006). Intensity of the white light was attenuated by the use of a neutral density frame-mounted filter (Edmund Optics, New Jersey, USA), thus ensuring that all wavelength-emitted intensities were the same. Final light intensity measured at the cornea was of 5 lux.

Measurements in both experiments were always done between 10 am and 4 pm, in a dimly lit room, with a 0.3cd/m² background illumination, at the Neuro-Computing and Neuro-Robotics Research Group Laboratory (Faculty of Optics, Universidad Complutense de Madrid, Spain). Subjects were positioned 1 m from the pupillometer's camera and 2 m from the experimental flash. Before recording their pupillary light reflexes, subjects were adapted to the dark for 10 minutes in a dark room. The fixation point was established at distance-vision, thus avoiding direct near-vision possible bias source. Light stimulus was emitted after 6 s, in order to obtain stable fixation conditions. The order of the 4 wavelengths of light emissions was randomized.

In the second experiment, where alcohol conditions were tested, there was a non-alcohol session equal than the protocol already mentioned. However, just after the non-alcohol measure, four extra sessions were carried out under the influence of alcohol. In this condition of progressive alcohol consumption sessions, the subject also was dark-adapted during 10 minutes. However, afterwards, the volunteer drank an alcoholic beverage (0.5 l of drink – 27.5 ml of ethanol per drink) during 35 minutes, and subsequently, four stimuli were emitted with a pause of two minutes between them in order to allow the pupil system to recover. The four alcohol sessions were done consecutively in the same way as explained in these lines. At the end, in the second experiment, every subject would have drunk a total of 110 ml of ethanol.

All files from both experiments were processed by Cabanillas software.

Regarding the statistical analysis, data of experiment I were analyzed firstly using the General Linear Model (GLM). GLM also included interactions between wavelength and age group, as well as the effect of both factors separately. Significance in these effects of interaction for the variables analyzed would mean that the differences showed in the responses according to wavelength also depended on the age group and viceversa. Consequently, it would allow us to analyze the influence of factors separately for each variable and perform three additional statistical analysis: Randomised Complete Block Design (RCBD) for the effects of wavelength in each age group, and both, Student's t test and ANCOVA, for the effects of the age for each wavelength (the latter analysis was only used for the variable amplitude of response, including basal pupil diameter as a covariate).

On the other hand, data of experiment II were analyzed by means of a Linear Regression model including Increase of basal pupil diameter as dependent variable and Alcohol in expired air as independent variable.

All results in this thesis will be showed with format as follows: Mean \pm Standard Error.

2.3 RESULTS

In both experiments, basal pupil diameter was always recorded before light stimulation with any of the different light wavelengths used in this study; thus, it was a non-wavelength dependant variable. Mean mesopic basal pupil diameter in the first experiment across all subjects was 5.61 ± 0.06 mm (min. 3.12 mm; max. 8.47 mm). As to the influence of age on this pupillary variable, an unpaired Student's t-test was

carried out. As expected, in mesopic conditions, volunteers ≤ 45 years showed a greater basal pupil diameter ($t=8.17$; $p<0.0001$) than those ≥ 46 years. Mean and standard error for measures in the younger group was 5.86 ± 0.06 mm. In the older group, the mean and standard error corresponded to 4.89 ± 0.10 mm.

Using generalised linear models, analysis of latency revealed statistical significance for both factors age [$F(1,139)=5.79$; $p\text{-value}=0.0175$], and wavelength [$F(3,202)=4.36$; $p\text{-value}=0.0053$] and a $p\text{-value}$ closely significant [$F(3,202)=2.42$; $p\text{-value}=0.06$]. Also, the overall analysis of the amplitude response did not reflect a significance for age but it did so for wavelength [$F(3,329)=10.93$; $p\text{ value}<0.0001$] and for the interaction between wavelength and age [$F(3,329)=4.38$; $p\text{-value}=0.0048$]. Conversely, interaction and factors significances were not found for velocity of constriction. However, due to statistical or near-statistically significant differences in most of the study variables, and due to graphic interactions shown between wavelengths and groups of age, we were encouraged to conduct RCDB-, ANCOVA- and Student's tests analyses for all three variables involved in pupil light reflex in the first experiment.

After RCDB-analyses in the younger group [$F(3,156)=9.99$; $p\text{-value}<0.0001$], shortest latency was found for white light in the total sample compared to latency response to blue light (450 nm) and red light (600 nm). Additionally, green light latency response was also shorter than red light latency response. For those > 45 years, latency response were not significantly influenced by wavelength.

Pupillary response to light had the greatest amplitude in white and green light (510 nm) conditions in the younger group [$F(3,173)=92.84$; $p<0.0001$]. In the older group, red light (600 nm) provoked significantly lower amplitudes of response compared to any other light [$F(3,53)=9.85$; $p<0.0001$].

Regarding to velocity of constriction, white light showed a greater mean compared to blue (450 nm) and red light (600 nm) in the younger group [$F(3,173)=2.90$; $p\text{-value}=0.0367$], whereas no significance was obtained in the older group.

In regards to the effect of factor age in each wavelength for the three variables evaluated (t-tests for latency and velocity and ANCOVA for amplitude of response), the results were the following. Latency of response for white light was lower for the ≤ 45 years group compared to the older group ($t=-2.55$; $p=0.0126$). Amplitude of response did not achieve statistical significance for any light, although red light obtained closely statistical significance [$F(1,79)=3.51$; $p\text{-value}=0.0649$]. Eventually, velocity of

constriction showed statistically significant differences for green light ($t=2.3$; $p\text{-value}=0.0231$), when the younger group obtained higher velocities compared to the older group.

On the second experiment, due to a possible relationship between increase of basal pupil diameter or INC (mm) and alcohol concentration in expired air (mg/l), a linear regression analysis was done. The former was the dependent variable and the latter was the independent variable. The linear model equation that describes the relationship between both variables was:

$$INC = -0.0281743 + 1.1449 * \text{Alcohol concentration in expired air}$$

Its meaning is the following: for each unit that alcoholemia increases, estimation of the increase of the mean value of the dependent variable INC corresponds to 1.1449 units.

Linear regression model resulted in statistically significance [$F(1,90)=39.95$; $p\text{-value}<0.0001$], showing a linear dependent relationship between both variables analyzed. Correlation coefficient ($r=0.55$) implied a moderately strong relationship. Moreover, R-squared coefficient was 30.74%, which means that 30.74% of the variability of the variable of increase of basal pupil diameter can be explained by variable of alcohol concentration in expired air.

2.4 DISCUSSION

New development in infrared pupillometry technology has provided high precision and a careful consideration of the temporal and spatial sequence of changes in static and dynamic pupillary values (Wilhelm & Wilhelm, 2003). In the whole study we have evaluated three dynamic variables (latency, amplitude and velocity) and one static variable (basal pupil diameter).

In experiment I, regarding the effect of wavelength in the groups of age, it has been found that white light and green light (510 nm) provoke greater amplitudes and minimal latencies than the other wavelengths. Moreover, blue (450 nm) and red (600 nm) lights are, in turn, associated to lower amplitudes and slower latencies. These results corroborate other findings in some pupillometric studies with general population (Bergamin & Kardon, 2003; Ellis, 1981; Fotiou et al., 2007). Special mesopic sensitivity of the PLR not just to white light but to green light can be explained by means of Purkinje effect (Stockman & Sharpe, 2006).

So far, studies have investigated the effect of the light on the pupil system exclusively by means of white light. Recent discovers about melanopsin ganglion cells (Gamlin et al., 2007; Kankipati, Girkin, & Gamlin, 2010) and studies about retinal disease discrimination (Léon et al., 2012) have multiplied the research aiming to examine wavelength effects by pupillometry.

In addition, regarding the effect of age in the older group, it has been found that latency was lower for the younger group after white light, and velocity of response was higher for the younger group after green light. Moreover, it was prominent a decrease in the basal pupil diameter in the older group. Therefore, our results in experiment I have shown a deficit in some parameters of the pupillary response according to other studies (Bitsios, Prettyman, et al., 1996; Fotiou et al., 2007). Such deficit has possible contradictory meanings. There is evidence that latency and amplitude of response of the pupil light reflex are due, almost exclusively, to parasympathetic activation (Capão Filipe, Falcão-Reis, Castro-Correia, y Barros, 2003; Heller et al., 1990). Although a real deficit of parasympathetic function cannot be ruled out in our case, it is also possible that our results in amplitude of response and latency reflect the loss of sympathetic inhibition over parasympathetic function with age (Arnold, Gallagher, & Diz, 2013). In fact, sympathetic activity may act through an increased central sympathetic inhibition of the Edinger-Westphal nucleus when light stimulus is received by the system. In this way, parameters that reflect parasympathetic activity can be indirectly modulated by inhibiting of sympathetic activity. Senile miosis in this way could be explained by recent findings showing a decline in visual cortex in macaques through ageing (Fu, Yu, Ma, Wang, y Zhou, 2013; Yu, Wang, Li, Zhou, y Leventhal, 2006). Due to this senile miosis, PLR parameters might be reduced.

More specifically, baseline pupil diameter differences between age groups are in line with those reported in the literature, and show that a tonic change in the pupil diameter is a general indicator that reflects autonomous arousal, one of the activation modes of the locus coeruleus-norepinephrine function (Aston-Jones & Cohen, 2005). As the contribution of the noradrenergic deficit to cognitive dysfunction in certain neurodegenerative diseases, such as Parkinson disease, has been underappreciated (Del Tredici & Braak, 2013), it could be interesting for future studies to evaluate the pupillary light reflex as a function of wavelength in people affected by these pathologies, in order to determine possible predictors of these diseases.

We propose that future pupillometric studies of the cephalic autonomic nervous system and ageing should include functional imaging or electroencephalography, with simultaneous recording of stimulus-evoked pupillary function parameters. It also should

be important for these studies to record one or more variables of different organs innervated by autonomic nervous system to find discriminative correlations. All of this would allow researchers to gain a better understanding of the mechanisms involved in transient and sustained pupil responses.

Moreover, this thesis shows a clear increase of basal pupil diameter values after alcohol consumption. Specifically, increase of basal pupil diameter grows 1.14 mm as unit of alcohol in expired air progresses, showing a clear relationship between these two variables.

Historically, some visual variables have been associated with alcohol consumption (Hill & Toffolon, 1990). As an innovation in this thesis, basal levels of pupil in mesopic conditions can be an optimal indicator, given the fact that it is a servomechanism impossible to manipulate by the volunteer, easy to register, and non-invasive. Certain studies highlight pupil light reflex as an indicator of psychotropic substances consumption (Monticelli, Tutsch-Bauer, Hitzl, & Keller, 2009) with no success in discriminating different drugs consumption. Other studies have obtained reductions in the main parameters of PLR but participants in these cases had a history of drugs consumption (Pickworth & Murillo, 2007; Rubin, Gottheil, Roberts, Alterman, & Holstine, 1978). In any case, relationship between the increase of basal pupil diameter and alcohol concentration have not been established so far.

Anyway, it is paramount to be careful in the interpretation of pharmacologically and pupillometry tests, even more if the deficit are mixed (sympathetic and parasympathetic branches) or bilateral, given the fact that the pattern of autonomic unbalance in pupil responses often correlates poorly with autonomic function of any other organ (Bremner, 2009); but certain findings can have a diagnostic value if they are measured in parallel among different systems innervated autonomically, and such pattern of correlations could be very informative (Bär et al., 2008; Maguire et al., 2007).

In quest of the social aim of bringing down the accident mortality rate, it is essential to discover new methods for complementary diagnosis of driving under the influence of alcohol and drugs. The findings showed here, provides the opportunity to expand the study of pupillometry as a means to detect alcohol and other psychotropic substance consumption and to move beyond from some functional deficits encountered in ethanol detection systems (Ali et al., 2013; Ignacio García, Almenara Barrios, & Hita Iglesias, 2002).

Therefore, pupillometry can be explored in detecting psychotropic substance use and abuse mainly regarding traffic safety. In any case, it would be important to

introduce different patterns of correlation among two or more autonomic variables, in order to detect a differential diagnosis between an acute alcohol consumption and other drugs consumption. Findings of this type of studies could be very useful in searching complementary diagnosis of driving under influence of alcohol and drugs.

To sum up, the present thesis consists in two different studies that intend to gain a better understanding of the pupil response to different light-wavelengths as a function of age and alcohol consumption. Results showed that basal pupil diameter is affected by age group and that latency and constriction velocity are also influenced by age group after stimulation of white and green light (510 nm). On the other side, wavelength modifies latency, amplitude and velocity in the younger group and only amplitude in the older group. In addition, the present thesis has found a clear correlation between alcohol concentration in expired air and increase of basal pupil diameter. Both studies are done in mesopic conditions, and provide adult wavelength dependent data patterns of most relevant pupil light reflex parameters, contributing to the large body of pupillometric research. Some relevant parameters influenced by white (5600°K), green (510nm) and, even red (600nm) wavelengths may be used in future studies to discriminate between normal ageing and abnormal or pathological changes in the cephalic autonomic nervous functions.

3 INTRODUCCIÓN

3.1 ANATOMO-FISIOLOGÍA: SISTEMA NERVIOSO

3.1.1 Sistema nervioso

Los animales reciben múltiples señales de su entorno a través de los sistemas sensoriales y responden por medio de sus sistemas somatomotores. Este procesamiento sensorial y motor y la consecuente integración de la información recibida está completamente bajo el control del sistema nervioso central (SNC), sistema que incluye al cerebro y a la médula espinal, espacios ambos donde se ubican los cuerpos neuronales.

Se requiere, igualmente, de un medio interno organizado que controle tejidos y órganos (incluido el propio cerebro), y esto se realiza a través de las prolongaciones neuronales necesarias para que se produzca la actividad motora efectiva. El control del medio interno es ejercido por el cerebro actuando sobre tejidos diana periféricos tales como las células de musculatura lisa de varios órganos, células de musculatura cardíaca, glándulas exocrinas, células endocrinas, tejidos metabólicos y tejidos inmunes primarios y secundarios. Las señales eferentes que permiten este control se dan desde el cerebro a la periferia y son de tipo neural, por medio del sistema nervioso autónomo (SNA), y de tipo hormonal, por medio de los sistemas neuroendocrinos. En cambio, las señales aferentes se realizan desde la periferia al cerebro y son, además de neurales y hormonales, fisicoquímicas (Jänig, 2014).

Por otro lado, el sistema nervioso somático inerva la piel y el sistema musculoesquelético, inicia los movimientos voluntarios. En contraste, el SNA, inerva las vísceras, que incluyen los órganos internos, las venas y arterias, y músculos no estriados, y consiste en tres subdivisiones: el sistema simpático y el parasimpático, además de una subdivisión que controla el aparato digestivo cuyo nombre es sistema nervioso entérico. En cualquier caso, la noción de sistema nervioso autonómico como subentidad separada del resto del sistema nervioso tiene muchos objetores y existe quien recalca que sólo existe un único sistema nervioso con varias funciones (Gibbins, 2013).

En general, la transmisión de las señales del sistema nervioso se debe a la conducción de señales eléctricas llamadas potenciales de acción a través de los axones de las neuronas. Estos potenciales de acción, que no son más que cambios de

voltaje de la neurona utilizando los canales iónicos, resultan en procesos de despolarización, si los iones de sodio entran en la neurona, o de hiperpolarización/repolarización, si los iones de potasio salen de la neurona. En este caso, las neuronas se comportan según la ley del todo o nada: si un estímulo alcanza el umbral, se inicia el potencial de acción y éste tiene siempre la misma intensidad. Si el estímulo no alcanza el umbral necesario, el potencial de acción no se inicia. La diferente intensidad de las sensaciones no depende de la intensidad del impulso, sino del número de neuronas estimuladas. Los potenciales de acción se transfieren posteriormente a través de las sinapsis, que en el organismo humano son fundamentalmente sinapsis químicas, por medio de neurotransmisores que posibilitan la comunicación entre neuronas que contactan físicamente.

Los neurotransmisores se ubican como sustancias empaquetadas en los botones terminales del nervio. Al llegar el potencial de acción, los canales del ión calcio dependientes del voltaje se abren y al entrar el ión calcio, se liberan al espacio intersináptico los neurotransmisores. La señal, al ser detectada por los receptores de la membrana postsináptica, posibilita que los canales de ión dependientes del voltaje de la neurona postsináptica se abran, iniciando un nuevo potencial de acción en la neurona postsináptica.

En general, los principios básicos de esta función son similares en todo el sistema nervioso. En cualquier caso, diferentes áreas del sistema nervioso pueden especializarse en el uso de un tipo determinado de neurotransmisores. Uno de los más importantes neurotransmisores es la acetilcolina (ACh), que es un neurotransmisor de tipo excitatorio. Se encuentra en el SNC pero también tiene su papel en el SNA, por ejemplo, transmitiendo la señal del nervio al músculo en la unión neuromuscular. Existen también neurotransmisores como son las aminas, que se dividen en catecolaminas, como la noradrenalina (NA) y la adrenalina (A), importantes en el funcionamiento del SNA, y la serotonina y la histamina. Igualmente, otro tipo de neurotransmisores relevantes son los aminoácidos, de tipo tanto inhibitorio (GABA) como excitatorio (glutamato y aspartato).

A modo de conclusión de este subapartado, se puede afirmar que el SNC es el responsable de enviar, recibir e interpretar información no sólo a partir de inputs procedentes del ambiente exterior, sino también a partir de información procedente de todas las partes del organismo. Es necesario, pues, recalcar que dicho sistema integra, además, la información procedente de sistemas motores generales, como SNA, el sistema nervioso somático y el sistema neuroendocrino.

3.1.2 Sistema nervioso autónomo

El sistema nervioso autónomo (SNA) es el responsable del control de respuestas sutiles y básicamente automáticas a estímulos externos e internos. Su finalidad es mantener el medio interno estable, al igual que ocurre con el sistema endocrino, aunque éste lo hace con respuestas más lentas y a través de hormonas. Ambos tipos de respuesta se exponen en la figura 1.

Dentro del SNA se puede dividir, a su vez, en sistema nervioso simpático (SNS) y sistema nervioso parasimpático (SNPS). Los sistemas simpáticos y parasimpáticos muestran funciones antagónicas en ciertas circunstancias. La mayor parte de las vísceras recibe inervación de cada uno de ellos, y aunque, intuitivamente se ha venido considerando la competición entre estas dos ramas, algunos autores defienden que la idea de competición *simpático versus parasimpático* es demasiado simplista (Gibbins, 2013).

Las vías efectoras de los sistemas simpático y parasimpático constan, típicamente, de una cadena de dos neuronas. Una neurona preganglionar, cuyo soma se localiza en el SNC, y envía su axón para sinaptar con una neurona postganglionar, cuyo soma está en el ganglio autonómico y que a su vez, inerva a los órganos diana. Los ganglios simpáticos se sitúan cerca de la médula espinal, con lo que las fibras postganglionares tienen un trayecto relativamente largo. Por el contrario, los ganglios parasimpáticos yacen cerca o dentro de las estructuras viscerales lo que da lugar a fibras postganglionares cortas (Navarro, 2002). La transmisión sináptica es mediada por la acetilcolina (ACh) en el ganglio en las dos divisiones del sistema autonómico, predominantemente cubierto de receptores nicotínicos (Snell, 2006). En cambio, la señal de transmisión entre la fibra postgangliónica y el órgano diana es mediada por la noradrenalina (NA) en el sistema nervioso simpático y por la ACh en el sistema nervioso parasimpático. Ambos sistemas carecen de actividad espontánea en ausencia de inputs sinápticos.

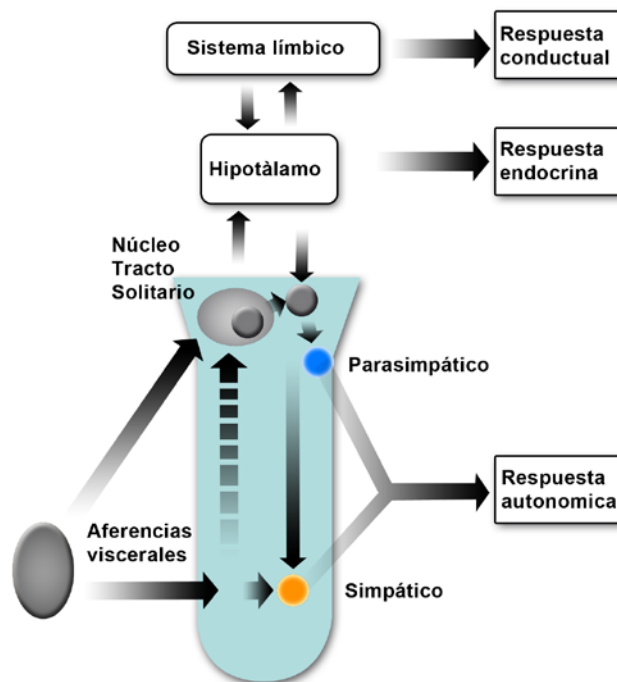


Figura 1. Representación esquemática de la disposición de las vías aferentes y eferentes del sistema nervioso autónomo y las respuestas que originan. Modificado de Navarro (2002)

Evolutivamente, el principio de organización del SNA y la prioridad del cerebro en la regulación autonómica es ya visible en la evolución de los vertebrados en registros de hace 500 millones de años (Nilsson, 2011). Esta conexión entre SNC y SNA ha sido largamente discutida, y aunque, clásicamente se ha considerado que los inputs aferentes que recibe el SNA se encontrarían incluidos dentro del SNA, lo cierto es que la evidencia actual tiende a sostener la exclusión de estas vías del SNA por inoperancia conceptual (Craig, 2003). Precisamente el SNA es un sistema cuya concepción ha conllevado un gran debate. Por ejemplo, se duda incluso de la exactitud de aplicar a la denominación de SNA el calificativo de “autónomo”, debido a las claras interconexiones expuestas entre sistemas (incluso en el caso del sistema nervioso entérico). También ha sido frecuentemente debatido el término “vegetativo”, sobre todo, debido a la connotación pasiva que posee dicho término, en claro contraste con la actividad evidente y organizada en la homeostasis general por parte del SNA (Rasia-Filho, 2006). Dicho autor propone que, más allá de dar un nombre exacto al sistema nervioso autónomo, sólo se denominen las ramas de éste (simpático, parasimpático y entérico), entendiendo éstas como consistentes de estructuras

heterogéneas que colaboran para mantener el medio interno estable frente a los cambios de las condiciones externas.

Además, durante muchos años, ha existido la transmisión inexacta de que toda actividad del sistema simpático es fásica, mientras que el sistema parasimpático muestra una activación más regular. Sin embargo, diversos ejemplos demuestran que no es adecuada dicha información y que ambos tipos de actividad se dan para ambas ramas: por un lado, el sistema simpático muestra actividad tónica para mantener la presión sanguínea y contener los esfínteres urinarios, mientras que por otro, el parasimpático activa de forma fásica la secreción salivar o la acomodación ocular (Gibbins, 2013).

En definitiva, la organización del SNA es la base para una precisa regulación de las funciones corporales (regulación cardiovascular, termorregulación, regulación del equilibrio de fluidos, y regulación de la evacuación), así como para una regulación del equilibrio de energía y nutrición, una regulación de los ritmos circadianos de las funciones corporales, y una regulación de la protección del cuerpo (incluyendo la defensa inmunológica). El SNS y el SNPS constituyen numerosos canales neuronales que transmiten los mensajes centrales desde el prosencéfalo y áreas del tronco del encéfalo a los tejidos diana autonómicos (Hadziefendic y Haxhiu, 1999; Loewy, 1991). Cada vía autonómica es conectada con un circuito específico neural de la médula espinal, tronco del encéfalo o hipotálamo, implicados en la regulación de la actividad (Jänig, 2014). Las vías aferentes consisten en grupos de neuronas aferentes con fibras no mielinizadas o fibras mielinizadas de pequeño diámetro. Estas neuronas aferentes monitorizan los estados metabólicos, químicos, termales y mecánicos de los tejidos corporales. El cerebro, por su parte, envía comandos eferentes a tejidos target periféricos a través de vías autonómicas periféricas. Esta comunicación recíproca se muestra en la figura 2.

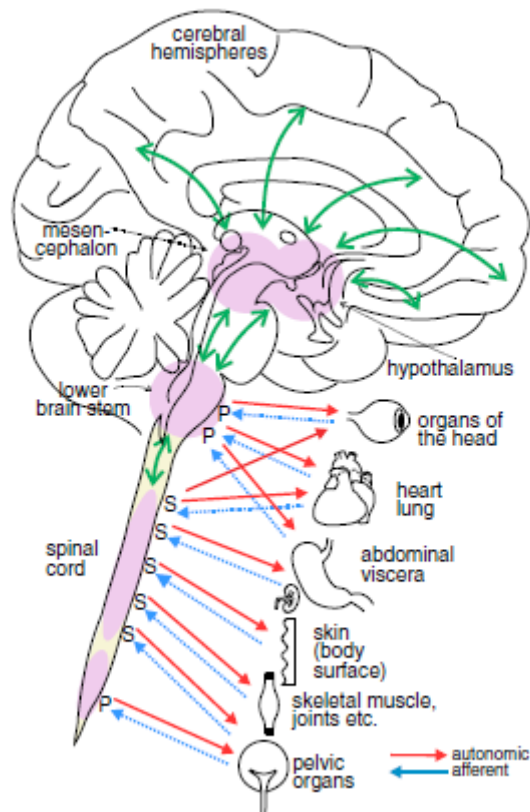


Figura 2. Comunicación recíproca entre el cerebro y los tejidos del cuerpo por vías autonómicas eferentes y vías aferentes. Los centros autonómicos en la médula espinal, tronco cerebral alto y bajo e hipotálamo están sombreados en violeta. Estos centros constan de circuitos neurales que son la base de la regulación autonómica homeostática y su coordinación con los sistemas sensoriales, somatomotores y neuroendocrinos que establecen el comportamiento. P. parasimpático; S, simpático. Tomado de Jänig (2014)

3.1.2.1 Sistema nervioso simpático

El sistema nervioso simpático (SNS) es la parte más extensa del SNA e inerva el corazón, los pulmones, o los músculos de las paredes de muchos vasos sanguíneos, entre otros (Snell, 2006). La función del mismo es preparar al organismo para una emergencia y, por ello, el SNS se ve estimulado en respuesta al estrés. Una respuesta al estrés por parte del SNS conduce a un aumento de la tasa cardíaca, presión arterial y flujo sanguíneo en dirección al sistema músculo esquelético. A su vez, esta respuesta conlleva una disminución del flujo sanguíneo a órganos no necesarios para la respuesta de ataque o evitación (*fight and flight*) y una vasoconstricción a nivel gastrointestinal y de los vasos sanguíneos de la piel.

Los cuerpos neuronales de las fibras simpáticas preganglionares se encuentran en la materia gris de la médula espinal entre la primera vértebra torácica (T1) y la tercera vértebra lumbar (L3), y sus axones se proyectan paralelos a la médula espinal en una “columna simpática paravertebral” (Gibbins, 2013). Las fibras postganglionares son largas y se disponen desde la columna simpática hasta el órgano diana.

Los receptores en el sistema simpático postganglionar responden al neurotransmisor noradrenalina (NA), y se dividen en alfa o beta adrenoreceptores. Cada uno tiene diferentes efectos con distintos patrones de distribución. La NA tiene mayor efecto sobre los receptores alfa. Como regla general, los sitios receptores alfa se asocian con la mayoría de las funciones excitatorias del sistema simpático y los betaadrenoreceptores se asocian con la mayoría de las funciones inhibitorias, aunque existe un grupo de betareceptores del miocardio asociados a excitación (Snell, 2006).

3.1.2.2 Sistema nervioso parasimpático

El sistema parasimpático (SNPS) es más activo en los estados de reposo aunque no sólo está implicado en acciones de inhibición. Por ejemplo, el flujo sanguíneo al intestino y la motilidad intestinal se ven aumentadas como resultado de la actividad parasimpática. Además, con ésta, la tasa cardíaca disminuye, y se producen las contracciones intestinales, de la vejiga y de las vías respiratorias.

En el SNPS, las neuronas preganglionares emergen desde núcleos cerebrales o desde el sacrum de la médula espinal. Las fibras preganglionares parasimpáticas son más largas comparadas con sus antagonistas simpáticas y, consecuentemente, sus fibras postganglionares son más cortas, muy cercanas al órgano diana. En cuanto a su distribución corporal, el SNPS no está tan ampliamente distribuido como el SNS.

El SNPS se puede dividir en tres subdivisiones, ocular, craneal y sacra (Gibbins, 2013). La subdivisión ocular consta de las vías parasimpáticas que conducen los reflejos de acomodación y pupiloconstricción (Gamlin, 1999). La subdivisión craneal tiene sus neuronas preganglionares en el tronco del encéfalo proyectando hacia pequeños ganglios alojados en la cabeza, cuello, tórax y parte superior del abdomen e implica algunas funciones (secretomotoras, por ejemplo) relativamente simples, al igual que implica funciones de gran complejidad como las que ostenta el nervio vago (Berthoud y Neuhuber, 2000). La tercera subdivisión sacral, con gran complejidad y especiales características, proyecta a los plexos pélvicos o a otros microganglios aledaños (Keast, 1999).

El SNPS utiliza como neurotransmisor exclusivamente acetilcolina (Ach). Los receptores de Ach puede ser divididos en muscarínicos y nicotínicos según cuál sea el tipo de sustancia por la que se vean afectados. Los receptores muscarínicos se encuentran en las sinapsis postganglionares, mientras que los receptores nicotínicos se encuentran en la sinapsis ganglionar.

Por tanto, el SNPS casi siempre participa en funciones antagonistas del SNS, aunque ya se ha recalcado la necesidad de superar la conceptualización de la relación entre las ramas simpática y parasimpática más allá de la competición, y definirla en términos de equilibrio óptimo (Gibbins, 2013). Un caso de interés general que sirve de ejemplo de este tipo de equilibrio, es el que se refiere al control de la tasa cardíaca. Cuando ambos sistemas autonómicos colaboran, esto produce que la tasa normal sea de entre 60 a 100 pulsaciones por minuto. Si la actuación del sistema simpático se eliminase, la tasa caería por debajo de las 60 pulsaciones (bradicardia), mientras que si la actividad del sistema parasimpático se frenase la tasa aumentaría por encima de las 100 (taquicardia).

3.1.2.3 Sistema nervioso autónomo: Inervación ocular

El ojo es inervado por fibras simpáticas y parasimpáticas. La inervación simpática del ojo emerge del nivel T1 de la médula espinal. Las fibras nerviosas entran en las cadenas simpáticas y ascienden al ganglio cervical superior abandonando el SNC. Las fibras postganglionares inicialmente viajan con la arteria carótida de forma ascendente hacia el ojo. Las fibras simpáticas inervan las fibras radiales del iris, el músculo superior tarsal (parte del elevador palpebral) y parte del músculo ciliar. Las cadenas simpáticas también inervan la musculatura lisa de los vasos sanguíneos, glándulas salivares y sudoríparas. Estas características se tienen muy en cuenta para diagnosticar condiciones como el síndrome de Horner. Si la actividad simpática no encuentra oposición, la pupila se dilatará, se elevará el párpado superior y se controlará la producción de moco, saliva y sudor (Neuhuber y Schrödl, 2011).

Los nervios parasimpáticos emergen de los núcleos Edinger Westphal (EW), núcleo del tercer par craneal o nervio oculomotor. Las fibras parasimpáticas se proyectan junto con las fibras oculomotoras de los nervios craneales III, VII, IX y X y salen del SNC para formar el ganglio ciliar. Así, las fibras postganglionares forman el nervio ciliar e inervan el músculo ciliar y el músculo esfínter del iris. La estimulación de las fibras parasimpáticas da lugar a la contracción del músculo esfínter del iris, dilatándose así la pupila.

Ambos tipos de fibras, tanto la innervación del músculo esfínter como la innervación del músculo dilatador, se señalan gráficamente en la figura 3.

El resultado de esta red de conexiones nerviosas a nivel ocular se refleja en que, a nivel pupilar, un incremento de la luz en el ambiente da lugar a la estimulación del reflejo pupilar a la luz (RPL). Este reflejo implica que la retina detecta este incremento súbito luminoso, y envía la señal a través del nervio óptico (segundo par craneal) a los núcleos pretectales, que a su vez, la envían al núcleo cercano de EW. Las fibras parasimpáticas desde este núcleo envían la señal hacia el ojo, iniciándose la miosis cuando la acetilcolina cruza la unión neuromuscular de forma efectiva. La falta de luz implica la dilatación pupilar debida a la contracción del músculo radial del iris.

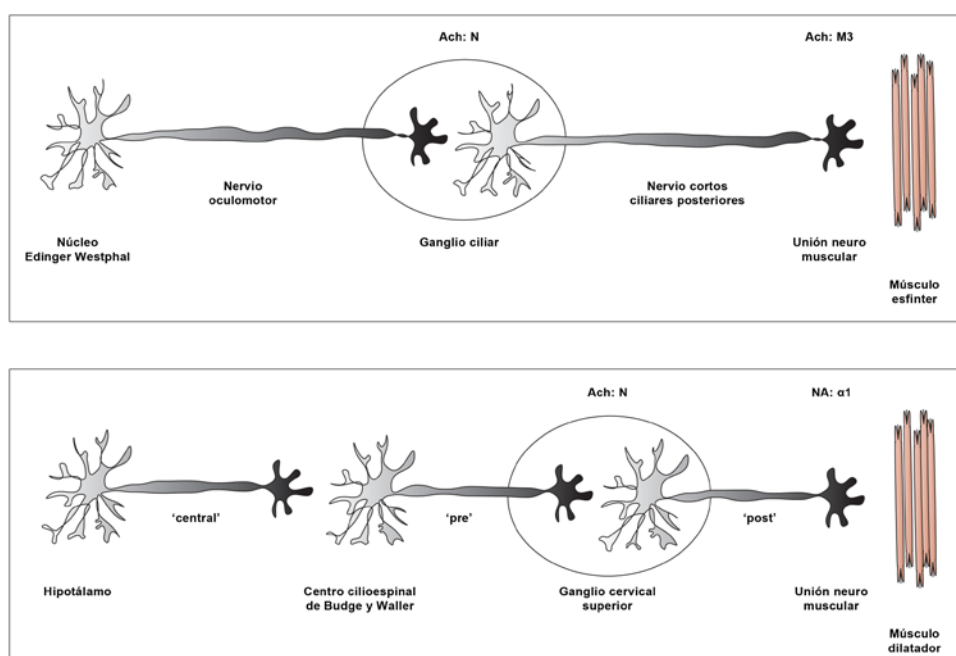


Figura 3. Diagrama esquemático mostrando la innervación del músculo esfínter del iris y del músculo dilatador por el sistema parasimpático y simpático respectivamente.

Ach:acetilcolina; N: receptor nicotínico; M3: receptor muscarínico; NA: noradrenalina; y $\alpha 2$: adrenergico. Tomado de Bremer (2009).

Por otro lado, algunas sustancias permiten evaluar el SNA a nivel ocular. Como midriáticos se usan la epinefrina, que actúa sobre ambos receptores adrenérgicos; la fenilefrina, estimulador alfa puro (Snell, 2006); la tropicamida, parasimpaticolítico midriático de corta duración (Lam, Chan, Rao, Fan, y Lam, 2010); o la atropina, que paraliza las fibras parasimpáticas y la cocaína, que impide la reabsorción de la

fenilefrina y antagoniza competitivamente la acción colinérgica muscarínica (Snell, 2006).

Dentro de las sustancias mióticas están la fisostigmina, la metacolina y la pilocarpina, agonistas colinérgicos (Edgar et al., 1999) o el dapiprazole, que bloquea el músculo dilatador de la pupila y permite evaluar la integridad del SNPS (Doughty y Lyle, 1992) y la clonidina, un fármaco que se ha mostrado que causa miosis en humanos (Bitsios, Langley, Szabadi, y Bradshaw, 1996) y que inhibe la producción de norepinefrina, disminuyendo la actividad simpática y favoreciendo la actividad parasimpática. De la misma manera que estos fármacos producen contracción del esfínter del iris, estimulan la contracción del músculo ciliar produciendo acomodación para la visión cercana. Estos efectos pueden ser útiles para el tratamiento del glaucoma, consistente en el incremento de la presión intraocular, ya que la miosis produce una apertura del canal de Schlemm y de la base trabecular del músculo ciliar facilitando el drenaje del humor acuoso, y reduciendo esta presión.

Tanto la constricción pupilar como la dilatación se expondrán con más detenimiento en posteriores epígrafes y se relacionarán en función de los factores que hasta ahora han sido demostrados como influyentes en las variaciones del diámetro pupilar.

3.1.2.4 Control central del sistema autonómico

Las lesiones cerebrovasculares pueden devenir en alteraciones autonómicas (Korpelainen, Sotaniemi, y Myllylä, 1999). Este resultado se atribuye al daño que se produce sobre la red neuronal autonómica central que regula la actividad autonómica. Esta red está formada por conexiones recíprocas, tanto directas como indirectas entre la división simpática y la división parasimpática y los núcleos neuronales a nivel de SNC (Navarro, 2002). Estos núcleos cerebrales relacionados con la regulación autonómica son la ínsula, la amígdala, el hipotálamo, núcleos del mesencéfalo como EW o el locus ceruleus (LC), y núcleos del tronco cerebral como el núcleo del tracto solitario y el núcleo del vago.

El núcleo del tracto solitario, localizado en el bulbo, es el centro de relevo de la información aferente visceral. En el núcleo del tracto solitario es donde se establecen conexiones con otras estructuras cerebrales como son el hipotálamo, el sistema límbico, la sustancia gris periacueductal, la amígdala; partes del córtex que, a su vez, se conectan entre sí dentro de la red neuronal autonómica central. A efectos de claridad, esta red central de control autonómica podría dividirse en núcleos

hipotalámicos y núcleos extrahipotalámicos (Critchley, Nagai, Gray, y Mathias, 2011). El objetivo de esta red es regular e integrar las respuestas de control visceral.

Entre los núcleos hipotalámicos, el más importante es el núcleo paraventricular del hipotálamo, que es el principal productor de la hormona oxitocina y participa en funciones en respuesta al estrés y a la alimentación. Un pequeño grupo de neuronas parvocelulares, ajeno al carácter neuroendocrino y hormonal del resto de neuronas del núcleo, se encuentra implicado en dicho control central autonómico. Este núcleo, con proyecciones descendientes ipsilaterales posee, como ningún otro núcleo en el cerebro, influencia sobre el flujo parasimpático y simpático (Palkovits, 1999).

Entre las estructuras extrahipotalámicas, los núcleos de control pueden ser divididos entre aquellos que influyen en el sistema nervioso parasimpático y aquellos que lo hacen en el sistema nervioso simpático. Los centros de control parasimpático a nivel extra-hipotalámico son el núcleo central de la amígdala, el núcleo dorsal motor del nervio vago, o los núcleos del rafe, mientras que uno de los lugares extra-hipocampales de mayor influencia simpática es el sistema locus coeruleus sistema noradrenérgico (LC-NA) que, por su especial relevancia en la influencia del diámetro pupilar basal (Aston-Jones y Cohen, 2005), se expone más detalladamente a continuación.

En definitiva, el cerebro está absolutamente implicado en la actividad autónoma. Las proyecciones ascendentes del núcleo del tracto solitario, transmiten un amplio abanico de información visceral a núcleos superiores, donde se establecen circuitos de conexión recíproca formando la red neuronal autonómica central (Navarro, 2002). Por otra parte, las vías eferentes del sistema nervioso autónomo que parten de estos núcleos de control central, tienen una primera conexión con las neuronas parasimpáticas del tronco del encéfalo (directamente o tras hacer una primera sinapsis con el núcleo del tracto solitario) y después, con las neuronas parasimpáticas de la región sacra y con las neuronas simpáticas de la región torácico-lumbar. Estas estructuras son el sustrato de la generación de reflejos rápidos y de reflejos más complejos que involucran a varios sistemas.

3.1.2.4.1 Locus coeruleus-sistema noradrenérgico

Como se ha mencionado, la actividad de varios sistemas neuromoduladores en el cerebro medio y en el tronco cerebral regula la actividad autonómica. Uno de estos núcleos de carácter neuromodulador, a nivel extrahipocampal, con mayor influencia

sobre el SNS es el locus coeruleus (LC), una región anatómica en el tallo cerebral involucrada en el comportamiento frente al pánico y al estrés.

El locus coeruleus es el sitio principal para la síntesis cerebral de NA (Samuels y Szabadi, 2008). El locus coeruleus y las áreas del cuerpo afectadas por la norepinefrina o noradrenalina, se describen colectivamente como locus coeruleus sistema noradrenérgico (LC-NA). El sistema LC-NA es uno de los mayores sistemas dedicados al arousal en el cerebro favoreciendo la interacción y la regulación del individuo a través de un mundo complejo (Berridge y Waterhouse, 2003). LC-NA envía sus proyecciones ascendentes a todas las regiones del córtex cerebral, en especial, a la formación hipocampal, al córtex entorrinal junto con al córtex mediotemporal adyacente, al giro cingulado y al neocórtex (Foote, Bloom, y Aston-Jones, 1983).

Por otro lado, alguna de esas conexiones son realizadas con otros sistemas neuromoduladores implicados en la vigilancia o en la función cognitiva, con el área tegmental ventral dopaminérgica, con los núcleos del rafe serotoninérgicos, y con los núcleos colinérgicos como el núcleo lateral dorsal tegmental, los núcleos pedunculopontinos o los núcleos basales de Meynert, recibiendo inputs de la mayoría de estos. Esta intrincada red de relaciones entre los sistemas neuromoduladores implica que los sistemas se activan en conjunto y se influyen unos a otros (Briand, Gritton, Howe, Young, y Sarter, 2007), además de a otras regiones corticales.

Resulta relevante comprobar que el LC-NA es la única fuente de inervación noradrenérgica con apenas 15000 neuronas en primates (Sara y Bouret, 2012). En cualquier caso, esta inyección noradrenérgica, sobre todo la referida a tálamo y córtex, influencia el arousal y el estado mental (Berridge y Waterhouse, 2003). Además, otras de sus funciones son: control y ajuste de las influencias en el procesamiento sensorial de todas las modalidades a través de tálamo y córtex sensoriales (Devlbiss y Waterhouse, 2011); regulación de la plasticidad sináptica del hipocampo (Harley, 2007); participación en la consolidación de la memoria mediante sus proyecciones sobre la amígdala (McIntyre, McGaugh, y Williams, 2012); y optimización de la memoria de trabajo y la capacidad de atención (Arnsten, Wang, y Paspalas, 2012).

Dentro de la teoría de la ganancia adaptativa, Aston-Jones y Cohen (Aston-Jones y Cohen, 2005) ponen de relieve que LC-NA posee dos modos básicos de activación. En el modo fásico, existe un aumento de actividad del locus coeruleus, conducida por los procesos de decisión relacionados con la tarea; produciendo una amplia pero temporalmente corta liberación de NA, y facilitando el comportamiento

asociado a la tarea. En definitiva, se trata de un filtro que preserva de la distracción hacia todo aquello que no es relevante para la actividad (explotación de la tarea).

Asimismo, el modo tónico de funcionamiento, aparece en cuanto se prolonga un declive de la utilidad de la actividad en la que está implicado el sujeto. Entonces, tiene lugar un incremento duradero de la liberación de NA que aumenta la respuesta de las neuronas target a eventos que poco tienen que ver con esta actividad (exploración fuera de la tarea), mientras que la paralela atenuación de la actividad fásica empobrece el procesamiento de los eventos relacionados con ésta. Las computaciones de la utilidad de la tarea, por su parte, pilotan las transiciones desde la respuesta fásica a la respuesta tónica y viceversa, y estas computaciones se realizan presumiblemente por la corteza orbitofrontal y por la circunvolución del cíngulo anterior (CCA).

Este cambio de foco de la atención ha encontrado explicación reciente (Sara y Bouret, 2012) en relación al sistema LC-NA. Estos investigadores sugieren que la NA actúa como una señal del LC, llevando a la red ventral frontoparietal de la atención, dirigida a estímulos salientes y comportamentalmente relevantes, a cancelar la red dorsal frontoparietal con objeto de lograr el cambio del foco de la atención. Precisamente, estos investigadores defienden que los núcleos del tronco del encéfalo que controlan el arousal autonómico también activan el LC cuando son activados por algún estímulo y que las neuronas del LC simplemente transmiten esta señal de arousal autonómico por medio de sus numerosas proyecciones. Las cortezas prefrontales probablemente modulan, a su vez, esta respuesta, dependiendo del contexto.

En lo referente al sistema visual y, más concretamente, a la apertura pupilar, y en línea con ciertos artículos que pusieron en relación el disparo de las neuronas LC con el arousal autonómico (Abercrombie y Jacobs, 1987; Jacobs, 1986), otros trabajos más recientes encuentran evidencia de que la dilatación pupilar varía de acuerdo a la actividad espontánea en las neuronas LC (Aston-Jones y Cohen, 2005). Existen otros trastornos, según estos autores, que pueden explicarse a través de la sinergia que se establece entre el sistema LC-NA y el sistema dopaminérgico, ya que esta relación puede tener particular relevancia para ciertos trastornos psiquiátricos, bien relacionados con la atención (TDAH), con el refuerzo psicológico (adicciones) o trastornos generalizados del desarrollo como el autismo. Por tanto, según Aston-Jones y Cohen (Aston-Jones y Cohen, 2005), ciertos parámetros pupilares tales como el diámetro pupilar basal podrían ofrecer información de la actividad del LC-NA en ciertos trastornos.

Para finalizar, en la figura 4, se presenta un esquema de la función de la LC. En ella, se manifiesta que, cuando un estímulo saliente o comportamentalmente relevante ocurre (flecha naranja), esto promueve la activación de las neuronas del LC en paralelo con las respuestas del reflejo autonómico, presumiblemente desde un input común, el núcleo reticular gigantocelular (NGC-flecha verde). La intensidad de esta activación es modulada como una función del contexto cognitivo, mediante influencias descendentes desde la amígdala y el córtex prefrontal (flecha roja). Esta influencia descendente podría ser ejecutada directamente por LC o indirectamente por NGC u otros núcleos del tronco cerebral. La activación de las neuronas del LC inducirá una liberación de la NA en sus numerosas regiones (zonas azules), incluyendo cortezas cerebrales, estructuras límbicas, tálamo, cerebelo, tronco del encéfalo y médula espinal. Este flujo de NA podría facilitar el procesamiento sensorial y motor, promoviendo la adaptación del comportamiento.

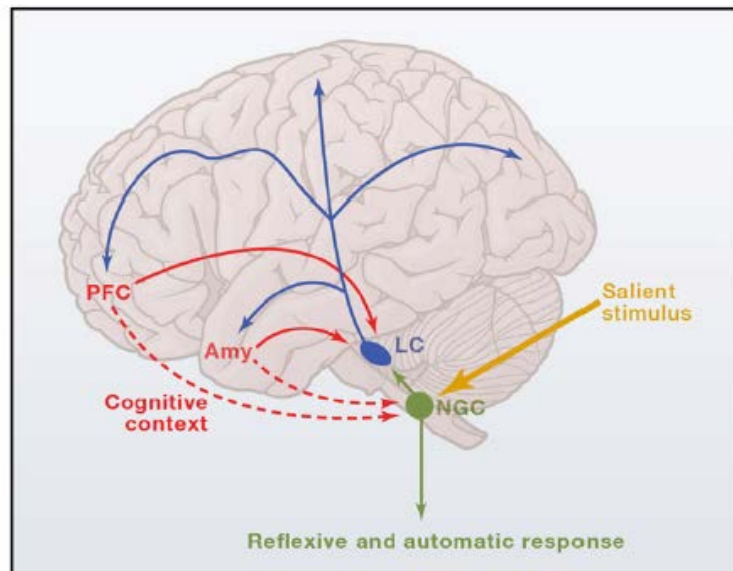


Figura 4. Esquema de los mecanismos que subyacen a la activación del LC y su función.

Extraído de Sara y Bouret (2012).

3.2 ANATOMO-FISIOLOGÍA: SISTEMA VISUAL

El procesamiento visual supone un desafío computacional para el cerebro, que ha desarrollado sistemas neurales eficientes y altamente organizados para satisfacer nuestras demandas visuales. Estudios clásicos realizados desde 1970 ya demostraron en primates que, aproximadamente un 55% de la corteza está especializada en el procesamiento visual, comparado con el 3% dedicado al procesamiento auditivo y el

11% del procesamiento somatosensorial (Felleman y Van Essen, 1991; Maurice, 1970).

El sistema visual demuestra poseer una eficiente organización en su transmisión de información, con el objetivo de cumplir con un procesamiento de alto orden, visoespacialmente complejo que permite la detección de objetos (Prasad y Galetta, 2011). Las vías visuales llevan a cabo la función de recibir, transportar y, finalmente, procesar la información visual. Estas estructuras incluyen el ojo, nervio óptico, quiasma y tractos ópticos, núcleo geniculado lateral del tálamo, radiaciones ópticas y córtex estriado y extraestriado. A continuación se expone el procesamiento visual en cada una de las partes mencionadas y en otros núcleos de importancia.

3.2.1 Globo ocular

El ojo es el órgano primario sensorial para la visión. Dentro de él se produce la absorción de luz, la focalización de ésta y la codificación de las primeras señales visuales. Para alcanzar la retina, la luz debe atravesar los medios oculares, consistentes en la capa lagrimal, córnea, cámara anterior, cristalino y cámara posterior del vítreo.

Para que la luz llegue al tejido nervioso de manera adecuada, necesita que el proceso de transmisión y acomodación sea lo más óptimo posible. Por ello, el epitelio corneal y el estroma son transparentes para permitir el paso de luz sin distorsión (Maurice, 1970) y además, el cristalino, córnea e interfaz de lágrima-aire contribuyen a la focalización de la luz. Para enfocar la luz óptimamente desde distancias variables, los músculos ciliares, de forma dinámica, ajustan la forma del cristalino para hacer incidir correctamente la luz sobre la retina (proceso de acomodación). Además, la cantidad final de luz que alcanza la retina es regulada por la apertura pupilar, que es el objeto principal de este trabajo y que se describirá en páginas posteriores en un apartado propio.

3.2.2 Retina

La retina de los vertebrados es una estructura sensible a la luz compuesta por diez capas y, principalmente, por tres tipos de células: aquéllas que se encargan del metabolismo (células pigmentadas), aquéllas que se encargan de codificar la información visual (neuronas) y aquellas células que dotan de sostén a la arquitectura, como son los astrocitos y las células de Müller.

Cuando la luz llega a la retina, su energía es convertida por los fotorreceptores en una señal electroquímica que es conducida y procesada por las neuronas. La distribución de los fotorreceptores a lo largo de la retina refleja directamente las funciones especializadas de la fovea y de la periferia retinal (Ahnelt, 1998). La fovea, en un diámetro de 1,5 mm, alberga 200000 conos/mm², cerca de 15 veces más densidad si se compara con la periferia retinal. Esta concentración de conos es la razón por la que el humano posee una excelente agudeza visual (Hirsch y Curcio, 1989). Por el contrario, los bastones están prácticamente ausentes en la fovea, siendo los fotorreceptores dominantes en la periferia retiniana.

Los seres humanos poseen tres tipos de conos y un tipo de bastón. En la mayoría de las ocasiones, cuando las condiciones son de media-alta luminosidad (condiciones fotópicas) la visión opera a través de los conos. Cada uno de ellos tiene una respuesta única y óptima a longitudes de onda específicas (cortas-azul; medias-verde; largas-rojo). Los bastones, por su parte, se saturan en condiciones de iluminación fotópicas y les bastan bajas intensidades de luz para operar. Su alta sensibilidad a la luz les hace ideales para el funcionamiento visual en condiciones escotópicas siendo incapaces de discriminar colores.

Los fotorreceptores usan un mecanismo altamente eficiente al convertir un fotón de luz en una señal neural electroquímica. El segmento externo del receptor contiene un fotorpigmento, compuesto por una proteína de membrana llamada opsina, más una molécula de cromóforo denominada 11-cis-retinal. Cuando la luz alcanza el fotorpigmento, esta acción provoca una transformación del cromóforo 11-cisretinal a todo-transretinal. Este proceso se muestra claramente en la figura 5.

Como resultado de un complejo proceso químico subsiguiente, los canales de sodio de la membrana se cierran, reduciendo la corriente de entrada de sodio y causando una hiperpolarización de la célula. Como consecuencia, la célula fotorreceptora reduce su emisión de neurotransmisores en respuesta a la absorción de la luz. Después de esta hiperpolarización, la corriente de sodio hacia el interior de la célula es restaurada, el potencial de membrana se incrementa y la liberación tónica de neurotransmisores se restaura alcanzando un estado de reposo.

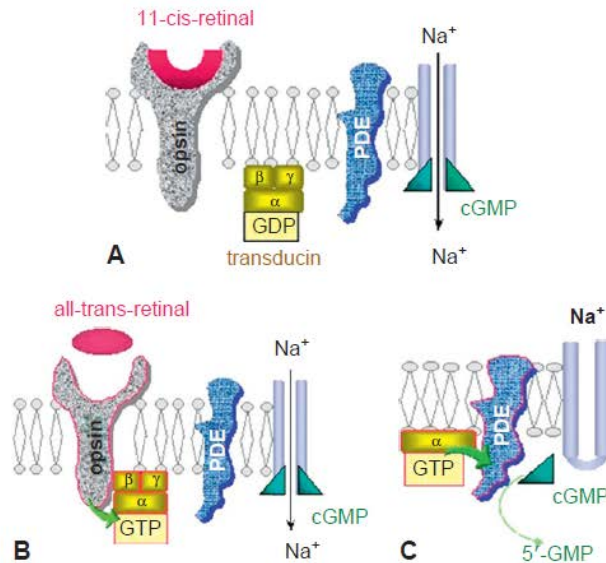


Figura 5. La reacción de los fotorreceptores a la estimulación de luz. **(A)** 11-cis-retinal en su estado inactivo está unido a la opsina. **(B)** Después de la absorción de la luz, la conformación del cromóforo cambia a todo-trans-retinal y se desprende de la opsina. La opsina activa la transducina por medio del reemplazo de la guanosin difosfato (GDP) con la guanosin trifosfato (GTP). **(C)** La transducina activada estimula la fosfodiesterasa, que metaboliza la guanosin cíclica citosólica monofosfato (cGMP). Un nivel reducido de cGMP provoca que los canales de sodio se cierren, rebajando el potencial de la membrana celular y reduciendo el output del neurotransmisor. Tomada de <http://www.lfhk.cuni.cz/rezacovam/fototransmise>.

La intensidad de señal que cada fotorreceptor produce depende principalmente de dos elementos: de la longitud de onda que recibe, y de la intensidad de la luz. Un fotorreceptor dado puede responder igualmente a la longitud de onda a la que es más sensible aunque sea poca la intensidad de luz, que a una longitud de onda a la que es menos sensible con mayor intensidad de luz. A partir de la señal que proporcionan los fotorreceptores (la reducción de neurotransmisores liberados) no se puede extraer la información exacta acerca de la longitud de onda y acerca de la intensidad de luz del estímulo recibido. Por consiguiente, las células siguientes en la cadena de procesamiento visual serán las encargadas de distinguir estas características del estímulo visual por medio de la comparación de los diferentes niveles de respuesta de cada tipo de fotorreceptor.

Estas células posteriores en la cadena de transmisión de la señal visual son las neuronas horizontales, amacrinas y bipolares. Las células horizontales y amacrinas son interneuronas moduladoras que forman conexiones laterales entre elementos de las capas intermedias de la retina. En cuanto a las bipolares, cada una de éstas en la

fóvea recibe inputs desde un único fotorreceptor que proporciona al sistema una alta agudeza visual en esta zona, mientras que, por el contrario, en la periferia retiniana, la célula bipolar suma los inputs de múltiples células fotorreceptoras. Este hecho le aporta sensibilidad al sistema visual.

Siguiendo con la cadena de sinapsis, las células bipolares proveen inputs a las células ganglionares a través de sinapsis directas y excitatorias de tipo glutamatérgico, o indirectas e inhibitorias de tipo GABAérgico (Flores-Herr, Protti, y Wässle, 2001). Las células ganglionares son de diferentes tipos, cada una de ellas tienen funciones especializadas en la detección de inputs. Las diferencias anatómicas implican importantes diferencias funcionales y fisiológicas en estos tipos de célula. Por ejemplo, el 80% de las células ganglionares son enanas-midget (parvocelular), con campos receptivos pequeños y su especialización es la alta resolución espacial, la visión del color y la estereopsis fina (Livingstone y Hubel, 1988); un 10% de las células ganglionares son células parasol (magnocelular), que tienen campos receptores amplios en comparación con las ganglionares enanas-midget, y baja capacidad de resolución espacial (Croner y Kaplan, 1995); y otro 10% del total de ganglionares corresponde a otros tipos de ganglionares.

Cada una de este tipo de ganglionares proyectan vías neurales separadas hacia los núcleos geniculados laterales (NGL). Las ganglionares enanas forman la vía P (parvocelular), las ganglionares parasol forman la vía M (magnocelular) (Hendry y Yoshioka, 1994; Kaplan y Shapley, 1986) y un grupo pequeño de ganglionares biestratificadas podrían formar la vía K (koniocelular) (Hendry y Yoshioka, 1994). Lo cierto es que, a día de hoy, el circuito retino-tálamo-cortical convencionalmente estudiado supone un modelo muy simplificado ya que se ha demostrado que la información visual es transmitida al cerebro por, al menos, 17 tipos diferentes de células ganglionares definidas por sus características morfológicas, sus propiedades de respuesta a la luz, y sus proyecciones centrales en circuitos de procesamiento paralelos (Field y Chichilnisky, 2007).

En relación con los tipos de neuronas ganglionares, existe un tipo de éstas que ha significado un importante aliciente en la investigación acerca del reflejo pupilar a la luz (RPL). Se descubrieron en la última década y han sido denominadas células ganglionares retinianas melanopsínicas (CGRm) denominadas también ipRGCs por sus siglas en inglés. Se trata de un grupo reducido de neuronas del 1% al 5% de las ganglionares, que son directamente fotosensitivas (Hattar, Liao, Takao, Berson, y Yau, 2002; Lucas et al., 2014). Precisamente, el gran impacto de su descubrimiento en la investigación de las ciencias de la visión en general, viene dado por su característica

de fotosensibilidad, pues hasta hace 10 años en el ser humano solo se describían como fotorreceptores los conos y los bastones.

Las CGRm desempeñan una función fotorreceptiva a través de la expresión de la melanopsina, un fotopigmento tipo opsina (Provencio et al., 2000), que, a su vez, es la expresión del gen de la melanopsina (*opn4*). Además, al contrario de lo que ocurre con los fotorreceptores clásicos (conos y bastones), la fototransducción en cascada de las CGRm, que ocurre ante altas y moderadas intensidades de luz, resulta en una despolarización celular (Hughes, Hankins, Foster, y Peirson, 2012). Los datos disponibles muestran que la sensibilidad espectral de la melanopsina de las CGRm es invariante entre especies con una λ_{max} en torno a 480 nm (Bailes y Lucas, 2013). No obstante, se han encontrado diferentes subtipos de células ganglionares melanopsínicas, que varían en su morfología y fisiología, con respuestas ligeramente diferentes, específicas según los distintos subtipos (Ecker et al., 2010).

3.2.3 Nervio óptico

Los axones de las células ganglionares se reúnen en la capa más interna de la retina, en la capa de fibras nerviosas y se proyectan al núcleo geniculado lateral (NGL) del tálamo. Las células ganglionares de la fóvea envían los axones directamente a la porción temporal del disco óptico en el ovillo papilomacular. Las restantes células ganglionares de la zona temporal se organizan en cada lado del rafe horizontal proyectando hacia las porciones superiores e inferiores del nervio óptico. Finalmente, los axones provenientes del lado nasal del disco entran en la porción nasal del nervio óptico.

Cada nervio óptico consiste en aproximadamente 1,2 millones de axones de células ganglionares retinianas (Balazsi, Rootman, Drance, Schulzer, y Douglas, 1984; Quigley, Addicks, y Green, 1982). El segmento intraocular de la cabeza del nervio óptico (el disco óptico) está típicamente localizado a 3-4 mm nasal de la fóvea y su diámetro es de 1 mm. El disco óptico tiene una depresión central llamada copa óptica, que es típicamente un tercio del tamaño del disco (Jonas, Gusek, y Naumann, 1988).

El nervio óptico se proyecta posteriormente a través de la lamina cribrosa para salir por la parte posterior del ojo, donde abruptamente incrementa su diámetro de 3 a 4 mm. Dado que el nervio óptico es una extensión del sistema nervioso central, a diferencia de otros nervios craneales y periféricos, se mieliniza con la participación de los oligodendrocitos y no mediante células de Schwann.

Cuando el nervio se proyecta más allá de la órbita, entra en el canal óptico hasta que alcanza el quiasma. En el extremo proximal del nervio óptico, los axones de las células ganglionares se reorganizan, de tal modo que aquellos provenientes de neuronas maculares se posicionan en el centro, las fibras temporales se sitúan temporalmente tanto en el plano superior como en el inferior, y las fibras de origen nasal continúan nasalmente en el nervio óptico.

En la mayoría de los individuos, el quiasma está directamente encima de la pituitaria (Doyle, 1990). En el quiasma óptico se produce una semidecusación de las fibras del nervio óptico. En el quiasma, los axones de las células ganglionares del lado nasal se unen a las células ganglionares del lado temporal del ojo contralateral. Las fibras que cruzan en el quiasma superan a las que no cruzan (Kupfer, Chumbley, y Downer, 1967). A partir del quiasma óptico, el conjunto de axones pasa a denominarse tracto óptico. El tracto óptico proyecta a núcleos fundamentales dentro del cerebro (presentados en la figura 6), que enriquecen la red de interacciones entre centros con función más o menos predominantemente visual, y que van más allá del clásico esquema de comunicación genículo cortical. Dichos núcleos se detallan en el próximo apartado.

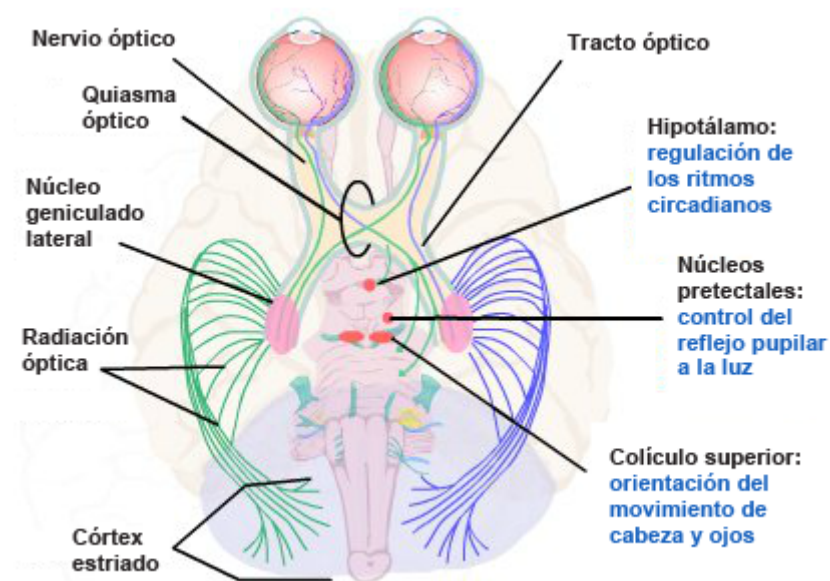


Figura 6. Superficie interior del cerebro ilustrando las vías visuales. Los lugares de término de los axones de las células ganglionares retinianas en los tres núcleos no visuales son señalados. Estos núcleos son hipotálamo, núcleos pretectales, y colículo superior. Tomada de <http://neuroscience.uth.tmc.edu/s2/chapter15.html>.

3.2.4 Núcleos de las aferencias retinianas a partir del tracto óptico.

3.2.4.1 *Núcleo geniculado lateral del tálamo.*

La mayoría de las fibras del tracto óptico desembocan en el NGL ipsilateral que es un pequeño engrosamiento oval del núcleo pulvinar del tálamo. El NGL posee una organización retinotópica, de tal manera que la visión de la mácula se representa en su porción central; el campo superior, en el cuerno lateral; y el campo inferior de visión, en el campo medial.

El NGL dispone de seis capas, cada una recibe inputs de un único ojo. Los axones de las células ganglionares de la retina ipsilateral sinaptan en las capas 2, 3 y 5, mientras que los axones de la retina contralateral sinaptan en las capas 1, 4 y 6 (Kandel, Schwartz, y Jessell, 2000). Por su parte, las capas 1 y 2 poseen grandes neuronas (magnocelulares), mientras que las capas 3 a 6 contienen pequeñas neuronas (parvocelulares). Intercaladas entre las seis capas, existen láminas de neuronas koniocelulares que, de forma preminente, sinaptan de forma directa con el área V5/MT que procesa la percepción del movimiento. Este input koniocelular podría contribuir al procesamiento del color en las áreas dedicadas al movimiento e incluso al procesamiento preservado del movimiento cuando los sujetos sufren alguna lesión en el córtex visual primario o V1 (Sincich, Park, Wohlgemuth, y Horton, 2004).

Las neuronas del NGL tienen propiedades muy parecidas a las de las células ganglionares retinianas. Todas responden a estimulación de un único ojo y tiene campos receptivos antagónicos centro-periferia. Las neuronas magnocelulares no son sensibles al color, pero sí al movimiento; las neuronas parvocelulares poseen gran afinidad en la detección de contrastes para la discriminación de la forma; y las neuronas koniocelulares, como ya se ha mencionado, muestran gran eficacia en la detección de colores y de la forma en movimiento. Los axones de estos subtipos neuronales llegan a subcapas diferenciadas del córtex visual primario.

El NGL no sólo recibe aferencias retinianas. De hecho, éstas son escasas comparadas con otras aportaciones (Van Horn, Erişir, y Sherman, 2000). Este núcleo también recibe conexiones del núcleo reticular del tálamo y del córtex visual. Estas conexiones facilitan que el NGL filtre la información que pueda resultar relevante en un determinado estado comportamental.

3.2.4.2 Colículos superiores.

Los colículos superiores juegan un papel fundamental en respuestas de orientación ocular y suponen una vía indirecta de comunicación desde la retina al córtex visual. Suponen la estructura más importante del mesencéfalo de los vertebrados, y, en el ser humano, su relevancia es fundamental para la generación de movimientos de ojo y cabeza a estímulos percibidos.

Sus capas superficiales únicamente procesan la información visual. En general, estas capas superiores envían eferencias a los núcleos talámicos, que después se envían a áreas corticales y median los movimientos sacádicos del ojo (Kandel et al., 2000). Sus capas profundas reciben información de tipo sensorial y motor de zonas cerebrales muy diversas. El output de las capas profundas de los colículos superiores se dirige al núcleo pulvinar o al NGL.

En la figura 7 se esquematizan las vías visuales a través del tálamo dorsal al córtex (Leopold, 2012). Como puede observarse en la figura 7b, hay dos vías directas desde la retina al tálamo dorsal, la vía retinogeniculada y la vía retinopulvinar, así como dos vías indirectas que pasan a través del cerebro medio, la vía retinocolículogeniculada y la vía retinocolículopulvinar. Tanto el pulvinar inferior como el NGL proyectan tanto al córtex visual primario y al córtex visual extraestriado, respectivamente.

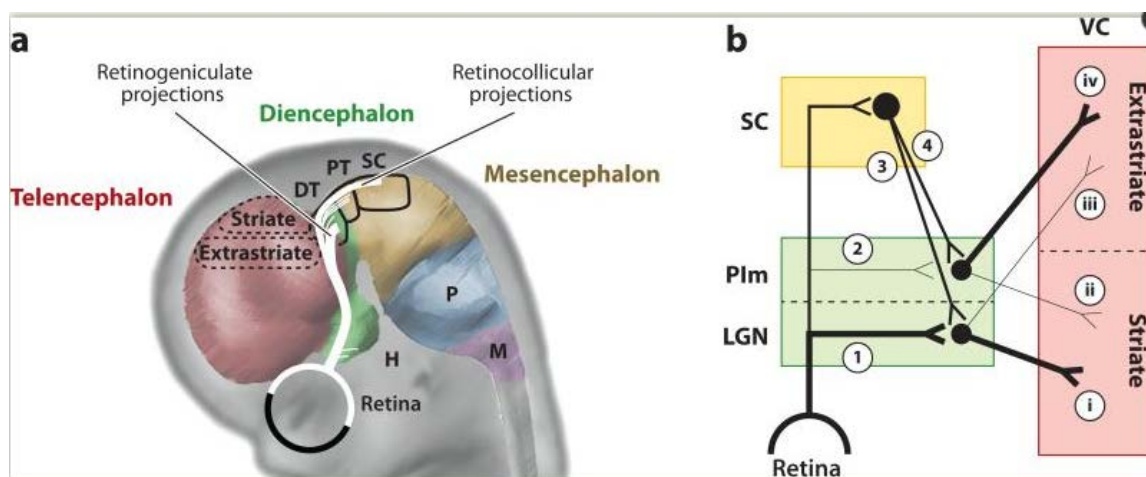


Figura 7. En (A) se muestran los targets de las células ganglionares retinianas en el diencefalo y mesencéfalo. Las proyecciones están situadas en un cerebro embrionario para enfatizar las posiciones relativas de los targets de proyección retiniana con respecto al neuroeje. Las proyecciones más fuertes son las del NGL, seguido por las capas superficiales del núcleo colicular superior (SC). En (B), se muestra una representación esquemática de las vías neurales al córtex. Tomado de Leopold (2012).

3.2.4.3 Núcleos pretectales del mesencéfalo.

Una porción de fibras del tracto óptico sinaptan con los núcleos pretectales del cerebro medio y sirven, de esta manera, al reflejo pupilar a la luz. Existe una inervación preganglionar parasimpática contralateral a ambos núcleos y cada uno de ellos proyecta a los núcleos pupiloconstrictores Edinger Westphal (EW). Estos proyectan al núcleo óptico accesorio (Büttner-Ennever, Cohen, Horn, y Reisine, 1996) y envían axones a través del nervio oculomotor para inervar el ganglio ciliar. Este ganglio contiene las neuronas postganglionares que inervan el músculo esfínter pupilar del iris que contrae la pupila, que también es regulada por el músculo radial del iris, innervado por vías simpáticas (Kandel et al., 2000).

Además del tracto óptico, se especula que estos núcleos EW reciben inervaciones de los núcleos olivar pretectal, por vía dorsal; y del lóbulo occipital, responsable mayormente del reflejo de acomodación, por vía ventral (Wilhelm, Moro, y Barbur, 2002).

Sin embargo, ha habido dificultad a la hora de denominar los núcleos Edinger Westphal (EW) debido a que dicho término se ha venido utilizando para dos grupos de células del cerebro medio yuxtapuestos y, de algún modo, entremezclados, que difieren dramáticamente en su conectividad y neuroquímica.

De una parte, el núcleo EW es una parte del complejo oculomotor que es una fuente de los inputs de las motoneuronas preganglionares parasimpáticas al ganglio ciliar, por el que se controla la constricción y la acomodación de las lentes oculares. Por otro lado, el término núcleo EW también se ha aplicado a la población de neuronas adyacente a las parasimpáticas, y que proyectan a nivel central, cuya respuesta está relacionada con el sistema simpático y con el estrés.

El problema terminológico reside en que el nombre EW ha sido históricamente aplicado al grupo de neuronas preganglionares, más prominente, y que se sitúa dorsalmente a los núcleos oculomotores somáticos. Esta asunción ha estado probablemente basada en la localización conocida de las motoneuronas pregangliónicas en monos. Sin embargo, en muchos mamíferos, los núcleos designados como EW, no están compuestos de motoneuronas preganglionares colinérgicas que inervan el ganglio ciliar, sino que contienen, en cambio, péptidos, como urocortina 1, y vierten diversas proyecciones al SNC. Como resultado, la literatura se convierte en excesivamente confusa.

Para resolver este problema, las recientes investigaciones (Kozicz et al., 2011) proponen que el término EW sea sustituido por terminología basada en la

conectividad, de manera que las neuronas preganglionares colinérgicas que inervan al ganglio ciliar sean denominadas población preganglionar Edinger Westphal (ppEW), mientras que las neuronas peptidérgicas con proyecciones a áreas centrales, sean denominadas población de proyección central de Edinger Westphal (pcEW). Dicha diferenciación puede observarse gráficamente en la figura 8.

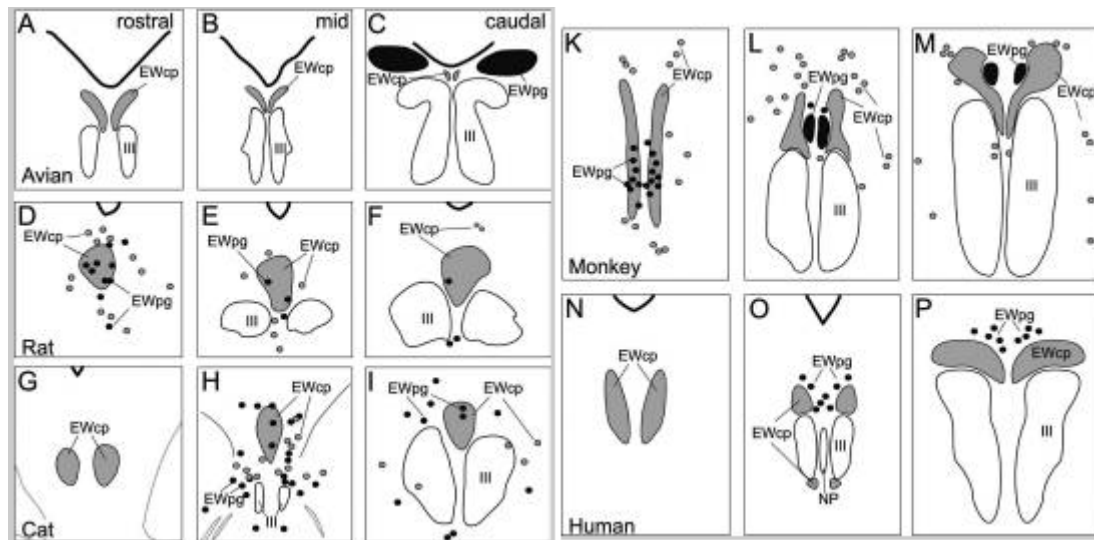


Figura 8. Representaciones rostrales, medias y caudales de la organización de las dos estructuras del núcleo EW según su conectividad colinérgica-preganglionar (EWpg, en gris oscuro) o central (EWcp, en gris claro) en varias especies de aves, rata, gato, mono y humano. Las células cuya localización traspasa los límites nucleares son indicadas en círculos pequeños. Tomado de Kozicz et al. (2011).

Los núcleos EW en primates parecen mostrar inputs tanto ipsilaterales como cruzados por parte de las áreas tectales (Loewenfeld, 1993), pero también reciben inputs de áreas tegmentales ventrales, pars reticulata de la sustancia negra, núcleo parabraquial, locus coeruleus y área subcoeruleus, núcleo incertus, núcleo del tracto solitario y núcleos del rafe, lo que supone cierta implicación de estos núcleos a nivel oculomotor (Breen, Burde, y Loewy, 1983). A su vez, las proyecciones del núcleo EW se dirigen a la médula espinal, núcleos del rafe y núcleos septales superiores (Loewy y Saper, 1978).

Los núcleos EW y los núcleos pretectales son importantes en investigación pupilométrica dado su carácter pupiloconstrictor. Por ejemplo, los estudios de pérdida de función pupilar en pacientes con síndrome de Parinaud con daño en EW han propiciado información útil que delimita la participación de los EW humanos en el reflejo pupilar fotomotor (Wilhelm et al., 2002).

3.2.4.4 *Núcleo supraquiasmático del hipotálamo.*

Las neuronas ganglionares fotosensibles melanopsínicas envían sus axones directamente, a través del tracto retinotalámico, a la base del hipotálamo anterior (Moore, 1973), donde se encuentra el núcleo supraquiasmático (NSQ). A diferencia de otras áreas cerebrales, donde la mayoría de las respuestas son cortas, las respuestas de las neuronas del núcleo supraquiasmático se mantienen hasta 20 segundos. Estas respuestas sostenidas, unidas a sus grandes campos receptores, permiten al NSQ modular la respuesta fiablemente en base a los niveles de iluminación ambiente.

Las eferencias del NSQ se derivan a la glándula pineal, donde se secreta melatonina, para sincronizar los ritmos circadianos. El NSQ adecúa nuestra fisiología por medio de outputs autonómicos y hormonales a diferentes órganos del cuerpo que requieren de activación o desactivación en diversas fases del día. Su función implica no sólo enviar estos outputs sino la necesidad de recibir información del estado fisiológico de los órganos diana para modular el output. Este proceso de modulación se realiza a través de la vía de control neuronal hipotalámica (Buijs, Escobar, y Swaab, 2013). Recientemente, se ha observado que hay una reducción significativa de la expresión del gen c-Fos en el núcleo supraquiasmático ante procesos glaucomatosos, lo que probablemente estaría relacionado con la reducción del reflejo pupilar a la luz aferente (de Zavalía et al., 2011).

3.2.5 Corteza visual primaria

Tras la diversificación de la señal aferente en los cuatro núcleos anteriormente explicados, la vía visual continúa desde el NGL hasta la corteza visual primaria, también llamada córtex calcarino. En la corteza visual primaria, la zona macular está sobrerrepresentada en el polo posterior de tal manera que 1 mm² de mácula es representado en 10° de la corteza visual, que supone el 60% del espacio (Horton y Hoyt, 1991; Tolhurst y Ling, 1988). En las zonas anteriores de la corteza se representa la periferia del campo visual.

Las radiaciones ópticas, fruto de las proyecciones desde el NGL al córtex estriado mantienen la organización retinotópica. Las radiaciones temporales representan el plano superior contralateral mientras que las radiaciones parietales representan el plano inferior contralateral. Ambas proyectan hacia el córtex estriado en el lóbulo occipital. Los fascículos de las proyecciones parietales proyectan en la orilla superior del córtex calcarino, mientras que los fascículos temporales lo hacen en la orilla inferior. En definitiva, ambos finalizan en la capa 4 del córtex estriado (Kandel et

al., 2000). Como es sabido, en la capa 4, existen dos tipos de neuronas previamente segregadas funcionalmente en el NGL. Por un lado, en la capa 4C α proyectan las neuronas de las capas magnocelulares (M), mientras que en la capa 4C β proyectan las neuronas de las capas parvocelulares (P). Ambas vías, M y P, envían proyecciones colaterales a la capa 6, que, como ya se ha dicho, proyectan de vuelta al tálamo.

Además de estas conexiones intercapas, las células del córtex visual están organizadas dentro de sistemas funcionales orientados verticalmente: columnas específicas de orientación, columnas de dominancia ocular y blobs. Las neuronas con propiedades similares de respuesta en los sistemas orientados verticalmente están unidas de la misma manera de forma horizontal. De este modo, la información visual se regula en dos dimensiones (vertical y horizontal). Este patrón de interconexión une distintos sistemas de columnas, por ejemplo, un conjunto de columnas específicas de orientación representaría todas las direcciones de movimiento en una región específica del campo visual. Estas hipercolumnas parecen funcionar como módulos computacionales elementales: reciben varios inputs, los transforman y envían su input a numerosas regiones del cerebro (Kandel et al., 2000).

En las neuronas de la corteza visual primaria (V1) se produce, por tanto, el primer procesamiento cortical de diversas características de la imagen. Por ejemplo, las neuronas de V1 son particularmente selectivas a orientaciones específicas de contraste de luminancia, un proceso en la base de la detección de bordes (Hubel y Wiesel, 1962). También se procesan de forma inicial las características del color, brillo y dirección del movimiento (Tootell, Hamilton, Silverman, y Switkes, 1988; Tootell, Switkes, Silverman, y Hamilton, 1988).

3.2.6 Cortex visual de alto orden

Básicamente, las zonas visuales superiores se dividen en dos corrientes funcionales: la vía *what* (corriente ventral), centrada en el detalle y el color de objetos y la vía *where* (corriente dorsal), centrada en las relaciones espaciales y también en el reconocimiento de movimiento (Goodale, Milner, Jakobson, y Carey, 1991). El procesamiento en la vía dorsal posee una menor latencia que el de la vía ventral (Schmolesky et al., 1998), de tal manera que la corriente dorsal se concibe como un área que se activa rápidamente por el estímulo visual modulando después por feedback la respuesta de áreas primarias como V1 o V2 (Bullier, 2001). Además, esta vía contiene algunas áreas muy densamente mielinizadas en relación a la corriente ventral (Rosa et al., 2009).

Hay que tener en cuenta que las cortezas visuales de alto orden pierden en gran medida la organización retinotópica (Livingstone y Hubel, 1983); por tanto, el sistema se ve obligado a paliar este hecho mediante comunicación interhemisférica e inter-área a través de las conexiones del cuerpo calloso.

Existen zonas corticales extraestriadas que han sido claramente asociadas a procesamiento de estímulos específicos. Por ejemplo, la zona occipital lateral parece responder a objetos más que a formas no definidas (Grill-Spector, Kourtzi, y Kanwisher, 2001; Kanwisher, McDermott, y Chun, 1997). Por otro lado, a nivel ventral en el lóbulo temporal, se encuentran el área fusiforme, que responde fundamentalmente al visionado de rostros humanos (Kanwisher et al., 1997) y otras áreas parahipocampales están especializadas en procesamiento de escenas (Epstein y Kanwisher, 1998). Toda la información visual finalmente se envía a áreas corticales asociativas según sea el proceso implicado, por ejemplo, el procesamiento emocional en la amígdala, o la formación de memorias a largo plazo en vía perirrinal y áreas parahipocampales.

Asimismo, en lo que respecta al funcionamiento pupilar y al reflejo fotomotor, varios estudios (Barbur, Harlow, y Sahraie, 1992; Sahraie y Barbur, 1997) han apoyado la idea de que áreas visuales extraestriadas que se dedican al procesamiento de la estructura, color y movimiento pueden influir en la actividad neuronal del núcleo EW a través de proyecciones directas o indirectas (vía otros núcleos pretectales). Este tipo de conexiones entran dentro de las conexiones feedback que se detallan en el próximo apartado.

3.2.7 Mecanismos de feedback y feedforward

La información en el sistema nervioso en general y en el sistema visual en particular no solo se genera en el sentido retina-tálamo-corteza en los llamados procesos de feedforward, sino que también fluye en sentido inverso en forma de feedback (Felleman y Van Essen, 1991). Por este motivo, un área determinada puede influenciar o modular la actividad y zonas previas del sistema visual. Esta necesidad de procesos feedback y feedforward es fundamental porque la percepción habitual no implica una imagen fondo/figura con límites claros y de un solo color, sino una multiplicidad de bordes presentes, y de contrastes de color. De ahí que el procesamiento del contexto sea absolutamente relevante para detectar la relevancia del estímulo.

Por tanto, este entramado de conexiones de ida y vuelta, sirve para afinar el procesamiento del input. Últimamente los avances técnicos han permitido acceder a una resolución más potente a nivel cerebral y ha podido estudiarse más en profundidad la conectividad de las neuronas corticales y sus relaciones (Callaway, 2004). Por ejemplo, se ha evidenciado que la corteza MT/V5 establece conexiones feedback con la V1, y ésta a su vez lo hace con el NGL (Cudeiro y Sillito, 2006). Por ello, algunos investigadores apuntan que el área MT/V5 podría influir sobre lo que acontece en el tálamo o en V1 antes de que estas estructuras hayan sido activadas por el estímulo (Cudeiro, 2008).

La actividad de feedback de capas corticales sobre núcleos de relevo anteriores ha sido también mostrada por una ingente investigación dirigida por el Grupo de Neurociencia Visual y Psicofísica de John Barbur en lo referente a la respuesta pupilar. Las investigaciones de este grupo han recogido numerosas influencias estimulatorias que modulan la actividad de las vías parasimpáticas a través del sistema simpático a nivel central (Barbur, 2004).

3.3 PUPILA

3.3.1 Conceptos básicos y anatomía

La pupila, denominada por los egipcios “djefet” o niña en los ojos, se considera la ventana hacia la mente o cerebro. La pupila es la abertura central en el iris que actúa a modo de diafragma; controla la cantidad de luz que entra en el ojo y es uno de los elementos oculares que mejora la calidad de la imagen que se forma en la retina. De hecho, el brillo, la definición de la imagen enfocada en la retina y la iluminancia retiniana, dependen no sólo de la luminancia de una fuente de luz externa sino también del área de entrada de la luz en la pupila en el ojo (De Groot y Gebhard, 1952). En condiciones normales, la pupila sufre leves cambios de forma continua. Su diámetro refleja el equilibrio entre la tensión expuesta por dos músculos del iris: el músculo esfínter y el músculo dilatador.

El iris está compuesto de diferentes tipos de células: la capa más interior, cercana al cristalino, es el epitelio pigmentado del iris. Por encima de dichas células pigmentadas están los músculos del iris y en la porción anterior, descansa el estroma del iris. El iris se anexa al cuerpo ciliar y a la unión corneoescleral. Esta región es conocida como el ángulo iridocorneal. Dentro de esta región, el cuerpo ciliar comparte

con el iris idéntico origen embrionario, pero se desarrolla en una estructura completamente diferente.

En el último siglo, el desarrollo del iris, ha sido estudiado como un modelo para comprender las complejas interacciones entre el neuroectodermo y el mesénquima periocular, ambos involucrados en la morfogénesis iridal (Davis-Silberman y Ashery-Padan, 2008). A continuación se expone un breve repaso de la embriología ocular para finalmente dar cuenta de cómo se forma el iris.

3.3.2 Esquema embriológico

Como es sabido, el ojo es un órgano sensorial que se origina a partir de componentes derivados de distintas fuentes, entre ellas, la pared del diencéfalo, el ectodermo superficial y el mesénquima migratorio. El desarrollo ocular comienza alrededor del día 22 de gestación cuando en las paredes laterales del diencéfalo se pueden apreciar los llamados surcos ópticos. Estos surcos ópticos aumentan de tamaño convirtiéndose en vesículas ópticas, cuyas paredes se yuxtaponen al ectodermo superficial. La cercanía entre capas propicia la transmisión de un importante mensaje inductivo que estimula la formación del cristalino a partir del engrosamiento de las células ectodérmicas superficiales.

El proceso de inducción del cristalino avanza cuando la vesícula óptica se hace cóncava y se transforma en la copa óptica. Además, una invaginación del ectodermo superficial favorece un desprendimiento del epitelio superficial por parte de la vesícula del cristalino. Una vez desprendida, esta misma vesícula cristaliniiana induce la formación de la futura córnea sobre el ectodermo superficial (Carlson, 2005).

La expresión diferencial de los genes Pax determina cuáles son las células que se convierten en copa óptica (futura retina) y cuáles son las células que se convertirán en tallo óptico (nervio óptico). Durante gran parte de su desarrollo, el cristalino se encuentra bajo la influencia de la retina, formada a partir de la copa óptica. En la parte ventral de la copa óptica aparece una hendidura denominada fisura coroidea, en la que se forma un canal donde discurre la arteria hialoidea hasta la cámara posterior del ojo.

Por tanto, mientras el cristalino, y la córnea se desarrollan, la copa óptica también sufre cambios profundos que involucrarán al futuro iris: la capa externa de la copa óptica se convertirá en la capa pigmentaria de la retina y los labios externos de la copa óptica van sufriendo su transformación a iris y a cuerpo ciliar. Con respecto a estos elementos, se ha propuesto al gen Pax6 como el factor clave que sincroniza la

interacción compleja de los distintos tipos de células (con diferente origen) que se citan en la morfogénesis de la parte anterior del ojo y, por ende, en la morfogénesis del iris (Cvekl y Tamm, 2004). En la figura 9 pueden apreciarse ejemplos de dos tipos de malformaciones irídeas debidas a manipulaciones genéticas del Pax6.

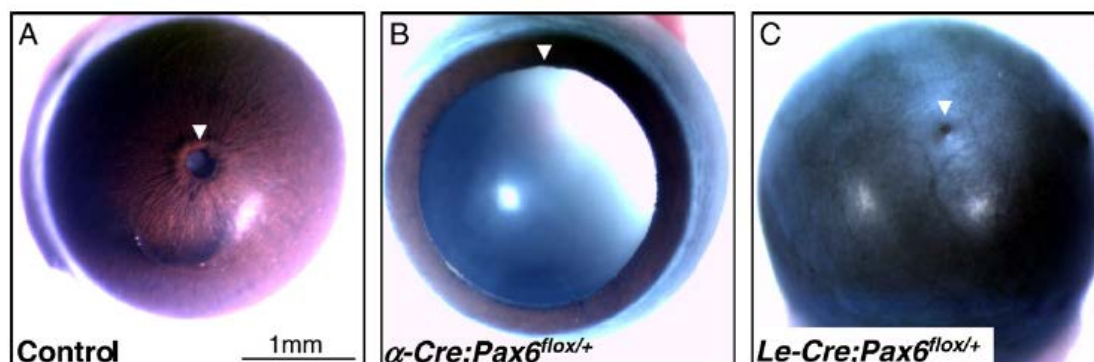


Figura 9. Fenotipos del iris de ratones mutantes somáticos del gen Pax6. Las tres son imágenes de ojos enucleados tratados con el fármaco agonista parasimpático pilocarpina que contrae la pupila (marcada por una flecha en cada imagen). En comparación con el ojo control, que es la imagen a la izquierda (A), los dos ojos restantes muestran complicaciones en la estructura del iris, tanto hipoplasia del iris (B) como cierre sobredimensionado (C). Tomado de Davis-Silberman y Ashery-Padan (2008).

La formación de la estructura del iris es morfológicamente evidente a mitad del período de gestación y se completa en fases postnatales (Davis-Silberman y Ashery-Padan, 2008). En concreto, el epitelio del iris y el cuerpo ciliar se diferencian de manera que los márgenes externos de la copa óptica dan lugar a las capas anteriores pigmentadas, mientras que los márgenes internos de la misma, forman la capa pigmentaria posterior del iris y las capas no pigmentadas del cuerpo ciliar.

Al comenzar el período embrionario, las células no neuronales de los márgenes de la copa óptica van conformando, en el futuro borde pupilar, subgrupos de células que serán la base del desarrollo de los músculos del iris (dilatador y esfínter), en un raro ejemplo en lo que se refiere a tejido muscular de proveniencia ectodérmica. Precisamente en el estroma se encuentran los primordios de los músculos esfínter y dilatador de la pupila. La procedencia del estroma del iris actualmente sigue en cuestión aunque se considera que proviene, tanto de células de la cresta neural, como del mesodermo (Davis-Silberman y Ashery-Padan, 2008). El esfínter permanece íntimamente unido al epitelio del que se origina hasta el sexto mes en que es separado por vasos y tejido conectivo. Desde el octavo mes sólo permanece unido permanentemente a nivel del borde pupilar. El dilatador aparece más tardíamente,

alrededor del sexto mes. Las estructuras iridocorneales resultantes de todo este proceso se desarrollan fundamentalmente en la vida postnatal (Cvekl y Tamm, 2004).

Existe una amplia evidencia del importante papel que desempeña el cristalino en la formación del iris. Por ejemplo, una ablación del cristalino produce un déficit en el desarrollo del iris, además de la córnea y el cuerpo ciliar (Beebe y Coats, 2000; Harrington, Klintworth, Secor, y Breitman, 1991). Además, muchas malformaciones, como la aniridia, son debidas a defectos propios del cristalino (Collinson et al., 2001).

Por tanto, la formación del iris dentro de la propia formación del ojo, supone un complejo proceso en el que estructuras de orígenes embriológicos diferentes, se desarrollan de manera interdependiente.

3.3.3 Parámetros pupilares

Como ya se ha mencionado, el iris, estructura coloreada y circular del ojo, posee la apertura pupilar tan característica de muchos seres vivos. La pupila está controlada directamente por dos músculos, por lo que sufre cambios en su tamaño provocados directamente por un desplazamiento de las fibras musculares. Dicho desplazamiento puede registrarse en un momento temporal determinado en el que no existe un cambio súbito de iluminación (valores concretos, propios de la pupilometría estática) o en un continuo temporal en el que pueden ocurrir variaciones más o menos bruscas del estímulo luminoso (valores continuos, propios de la pupilometría dinámica).

3.3.3.1 Medidas estáticas

Existen ciertos parámetros básicos de interés en pupilometría estática:

- El hipus, que es el cambio rítmico e irregular de contracción y dilatación independiente de los cambios de iluminación ambiente.
- El diámetro basal pupilar, que supone la amplitud total de apertura de la pupila sin intervención de ningún tipo de estímulo. Esta amplitud de apertura normalmente es medida en mm, y se registra ante condiciones estables de determinado nivel de luminosidad.
- La anisocoria pupilar, que es la diferencia de diámetro pupilar basal entre ambos ojos. Su valor es mayor y más variable en condiciones que propician diámetros pupilares mayores, por ejemplo, en condiciones de baja iluminación (Ettinger, Wyatt, y London, 1991).

De estos tres parámetros, el más estudiado ha sido el diámetro pupilar basal, también denominado diámetro pupilar en reposo. Son algunas las investigaciones que han logrado muestras suficientemente amplias con objeto de obtener un patrón por edad, tanto del diámetro pupilar en reposo ante diferentes niveles de iluminación (Ellis, 1981; Winn, Whitaker, Elliott, y Phillips, 1994), como del diámetro pupilar adaptado a la oscuridad (Bradley, Bentley, Mughal, Bodhireddy, y Brown, 2011).

En relación con lo anterior, es de reseñar que, a lo largo de la vida, la edad provoca un efecto significativo sobre el diámetro pupilar basal, mostrándose una reducción del mismo a medida que avanza la edad cronológica. Esta reducción se ha estimado en 0,043 mm por año en medidas en bajos niveles de luminancia (mesópica/escotópica), y de 0,015 mm por año en medidas en altos niveles de luminancia (fotópica) (Winn et al., 1994).

Además de la edad, que es el factor clásico para estudiar los cambios (en este caso, evolutivos) que sufre la pupila, se han investigado muchos otros factores que provocan claras influencias. Algunos de estos factores son las drogas/alcohol (Lobato-Rincón et al., 2013), los fármacos (Theofilopoulos, McDade, Szabadi, y Bradshaw, 1995) o algunas patologías de carácter sistémico o autonómico (Jain et al., 2011). Incluso en investigaciones recientes, se constata que el ejercicio físico puede provocar variaciones, aumentando el diámetro pupilar (Hayashi, Someya, y Fukuba, 2010).

Entre los factores que no han mostrado influencia en las variaciones del diámetro pupilar, cabe destacar la hora del día en la que se registra el tamaño pupilar fotópico, el sexo del individuo, el error refractivo, el color del iris o la amplitud del campo visual tanto en condiciones fotópicas como mesópicas (Kobashi, Kamiya, Ishikawa, Goseki, y Shimizu, 2012; Atchison et al., 2011; Bergamin, Schoetzau, Sugimoto, y Zulauf, 1998; Jones, 1990; Winn et al., 1994).

Entre las consecuencias ópticas dependientes del diámetro pupilar, se encuentran algunas determinantes de un inadecuado desempeño visual. Por ejemplo, las aberraciones ópticas aparecen ante un mayor tamaño pupilar (Liang y Williams, 1997); y por ello, la pupilometría se muestra relevante para evitar dichas aberraciones dentro del área de conocimiento de la cirugía refractiva. En cambio, en algunos estudios no se ha encontrado una correlación significativa entre diámetro pupilar basal preoperatorio y la aparición de halos y deslumbramiento, después de queratectomía fotorrefractiva (PRK) (Haw y Manche, 2001).

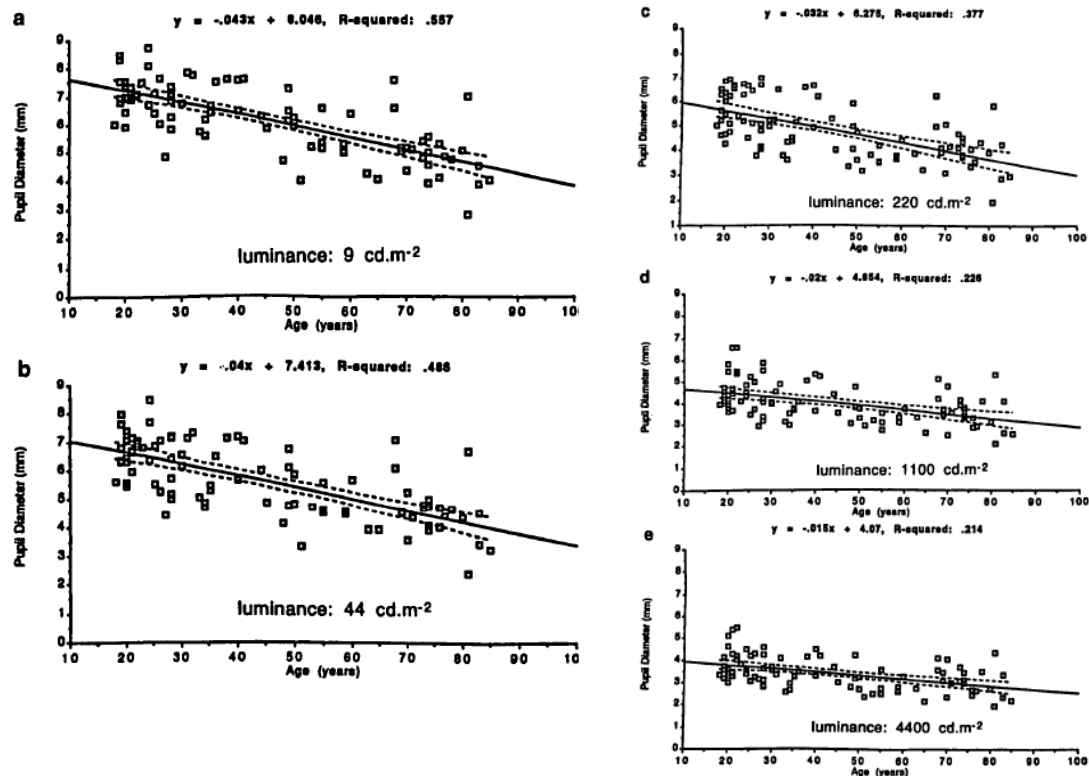


Figura 10. El diámetro pupilar en función de la edad para cinco condiciones de luminancia (9 cd/m^2 , 44 cd/m^2 , 220 cd/m^2 , 1100 cd/m^2 , 4400 cd/m^2). Los datos se ajustan a una recta de regresión lineal. Nótese la marcada reducción de la pendiente en función del incremento de luminancia. Tomado de Winn et al. (1994).

En definitiva, numerosas investigaciones han demostrado la relevancia del diámetro basal pupilar en reposo y algunos estudios afirman que, con el control adecuado, otra variable estática, la anisocoria estática, produce cambios más fiables y objetivos que analizar el reflejo pupilar a la luz (Jacobson, 1998). Actualmente, en general, se pueden encontrar trabajos en ambas direcciones que aportan datos de interés con relación a la anisocoria según factores de interés como el sexo y la edad (Koh y Kim, 2013), aunque se espera un mayor refinamiento en futuras investigaciones.

3.3.3.2 Medidas dinámicas

Como ya se ha mencionado, la naturaleza pupilar implica un cambio prácticamente continuo. Los dos inputs fundamentales que afectan a la pupila en los cambios motores más notables son la luz y la acomodación, siendo ambos relativamente fáciles de controlar. Por ello, la pupila, que podría caracterizarse como

un servomecanismo neurológico ante condiciones físicas con multitud de características prácticas, ha atraído la atención de bioingenieros y físicos desde hace décadas (Spring y Stiles, 1948).

La tecnología actual permite el registro en el tiempo de los cambios pupilares y la valoración de las distintas fases que componen el RPL. Los clásicos registros de pupilometría estática no permiten la captación de un importante cúmulo de información de la respuesta pupilar continua en el tiempo. Por ese motivo, para registrar de forma continua cambios pupilares en función de diversa estimulación, se precisa de la pupilometría dinámica.

La pupilometría dinámica convencional consigue, mediante el registro continuo de la respuesta pupilar, valorar íntegramente el reflejo fotomotor, que, en condiciones normales está protagonizado por una constricción rápida y robusta, predominantemente activada por conos y bastones. Para facilitar la comprensión de este texto, se van a ir analizando las diferentes fases de reflejo pupilar a la luz, describiendo sus componentes y capacidades.

Uno de los componentes fundamentales del RPL es la latencia de respuesta. La latencia es el tiempo transcurrido desde la presentación del estímulo hasta el inicio de la actividad pupilar. La duración de la latencia se debe, en su mayor parte, al tiempo de contracción del músculo liso del iris y sólo una parte relativamente pequeña se debe al tiempo de conducción en la vía del RPL. En general, la reducción de la latencia se asocia al incremento de la amplitud del reflejo, provocado por una mayor intensidad luminosa (Ellis, 1981).

La latencia es uno de los parámetros del RPL que resulta más complejo de medir, pues es difícil determinar si la reacción percibida en la pupilometría es una reacción al estímulo o es simplemente ruido. Para resolver este conflicto, los investigadores han utilizado el análisis de la primera y la segunda derivada de las curvas pupilares para evitar umbrales arbitrarios (Bergamin y Kardon, 2003). Estos mismos investigadores determinaron que las diferencias de las latencias entre ambos ojos de un mismo individuo son prácticamente nulas, sobre todo con intensidades de luz moderadas y altas.

Por otro lado, la pupila, en respuesta a una luz, puede rápidamente reducirse en función de un rango de aproximadamente 9 unidades logarítmicas de iluminación ambiente, para limitar la exposición luminosa retiniana. La cantidad de constricción pupilar se denomina usualmente amplitud de respuesta (mm). Existen muchos estudios que, a partir del descubrimiento de las neuronas melanopsínicas (Provencio

et al., 2000), han destacado la influencia de su actividad sobre el diámetro y respuesta pupilar (Lucas et al., 2014). De ahí que en la última década se han desarrollado estudios de gran interés con la amplitud de respuesta como variable preponderante. A continuación, pasan a detallarse las aportaciones más destacables:

La amplitud de respuesta es el resultado de la diferencia entre el valor absoluto del diámetro pre-estimar y el diámetro en el punto de constricción máxima. La participación melanopsínica en ella depende tanto de la longitud de onda del estímulo luminoso excitatorio como de la duración del mismo. Con respecto a la longitud de onda, esto es así porque ante estímulos que no exceden el umbral de activación de la melanopsina en relación a la longitud de onda, la pupila gradualmente se recupera después de la amplitud pupilar puntual. Sin embargo, si el umbral de la activación de la melanopsina es excedido mediante estimulación de longitud de onda corta, la pupila no se recuperará y asumirá un diámetro continuo y contraído que persiste a lo largo de la estimulación de la luz (McDougal y Gamlin, 2010; Mure et al., 2009).

Además, la duración del estímulo también puede ser definitoria de la amplitud pupilar. Por ejemplo, si se produce una estimulación extendida, la respuesta será predominantemente conducida por la melanopsina. En este caso, cuando el estímulo luminoso cese tras una duración prolongada (que sobrepasase el umbral de la activación de la melanopsina), la constricción persistirá por varios segundos, dando lugar a una respuesta post-iluminación (Tsujimura, Ukai, Ohama, Nuruki, y Yunokuchi, 2010). Se trataría éste último de un nuevo parámetro pupilar recientemente descubierto, más allá de los parámetros clásicos ya mencionados. Esta respuesta pupilar de post-iluminación (PIPR) se presenta después de estimulaciones superiores a 10 segundos (Gamlin et al., 2007; Kankipati et al., 2010).

Otros parámetros importantes del RPL igualmente estudiados con pupilometría dinámica son el tiempo de amplitud, el tiempo de recuperación y el porcentaje de recuperación con respecto al diámetro basal. Además, adicionalmente, existirían parámetros que reflejan propiamente la función simpática, como es el tiempo entre la desaparición del estímulo luminoso y el inicio de la dilatación de la pupila (tiempo de latencia de dilatación) y parámetros que reflejan la función parasimpática, como son el tiempo promedio de latencia de constricción, e incluso el tiempo entre la exposición al estímulo y el inicio de la velocidad máxima de constricción. Por último, también puede estudiarse el reflejo a la oscuridad (Price, Thompson, Judisch, y Corbett, 1985) así como los parámetros obtenidos de su función (figura 11), como son latencia, amplitud del reflejo de oscuridad o tiempo de dilatación.

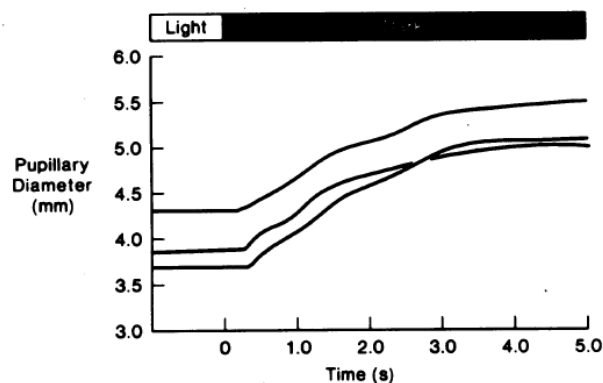


Figura 11. Respuesta del reflejo a la oscuridad por parte de tres personas sanas. Las luces fueron apagadas en el punto de los 0 s de la escala de tiempo. Tomado Price et al. (1985).

Por otro lado, existen otros parámetros dinámicos pupilares cuya medición es menos habitual. Por ejemplo, se han observado oscilaciones pupilares que se han atribuido a condiciones nocivas como la falta de sueño. Estas oscilaciones se aprecian en la oscuridad y, en buena medida, son consecuencia de inhibiciones de los núcleos EW como resultado de las fluctuaciones del sistema simpático central (Wilhelm et al., 2002).

Otros trabajos estudian la existencia de ciertas oscilaciones pupilares ante estimulación luminosa continuada que no se corresponden con las oscilaciones fruto de la falta de sueño (Warga, Lüdtke, Wilhelm, y Wilhelm, 2009). Por el momento, se ha demostrado que no son simplemente la consecuencia de fluctuaciones en el sistema de acomodación (Hunter, Milton, Lüdtke, Wilhelm, y Wilhelm, 2000), así como que, siendo inducidas por la luz, correlacionan positivamente a medida que aumenta la intensidad luminosa en sujetos con nivel de arousal alto y estable (Wilhelm et al., 2001).

Otra variable dinámica analizada menos profusamente ha sido el tiempo de ciclo pupilar. En el subapartado de Técnicas clínicas neurológicas se explica con profundidad el experimento clásico referente a esta variable.

En definitiva, la pupilometría dinámica mesópica y fotópica, entendiendo por pupilometría dinámica el estudio de las diferentes fases del RPL en secuencia de grabación prolongada en el tiempo, se recomienda de manera expresa en la literatura científica para varias aplicaciones. Entre ellas, se van a destacar:

- Pupilometría dinámica pre-cirugía refractiva. Es uno de los campos más habituales de la pupilometría, estando indicada para la planificación y evaluación previa a la intervención de cirugía refractiva. El objeto de esta

medida en la valoración prequirúrgica, propone que la pupilometría dinámica dé cuenta de las variaciones mínimas del tamaño pupilar y de la anisocoria registrada para asegurar que las zonas de ablación se corresponden con los valores máximos de las pupilas mesópicas y, de esta forma, evitar los efectos secundarios generalmente asociados a halos luminosos (Rosen et al., 2002).

- Pupilometría para detección de patologías y trastornos. La pupilometría dinámica es también una técnica actualmente muy en boga en el campo de la neuro-oftalmología. Se utilizan sofisticados análisis de los valores pupilométricos con estímulos estáticos, dinámicos, únicos y/o parpadeantes. Los datos de reacción son medidos en ms, y proporcionan la posibilidad de estandarizar patrones, de comparar individuos enfermos e individuos sanos y de ser indicadores de ciertas patologías y de monitorizar su evolución (Carriers, 2013).
- Pupilometría para el estudio de la atención. La investigación acerca del comportamiento pupilar también se ha realizado gracias a metodologías ligeramente diferentes desde otros ámbitos y disciplinas, bien sea desde la neurociencia de la atención o el estudio científico de la lectura, como es el caso del eye tracking (Duchowski, 2002).
- Pupilometría en el campo de la seguridad y/o autenticación. En las últimas décadas, muchos han sido los avances generados en este sentido que han dado lugar al uso de la pupilometría como método biométrico para el reconocimiento de personas por el iris (Daugman, 1993; Du, 2006).

3.3.4 Metodología para medición de la respuesta pupilar

3.3.4.1 Conceptos básicos

Como es sabido, la constricción pupilar a la luz es un reflejo involuntario que puede ser fácilmente logrado y observado sin equipamiento especializado o discomfort del paciente. Por ello, la medida pupilar ya se realizaba desde siglos atrás, bien sea a nivel clínico como a nivel de laboratorio. Existen informes sobre pupilometrías desde 1929 cuando Otto Lowenstein desarrolló un método basado en el análisis de evaluaciones sencillas de los negativos de las fotografías. Otra manera de medir la pupila ha sido la de la clásica tarjeta de Rosenbaum, que ha pervivido hasta nuestros

días, a pesar de sus numerosas desventajas (Ho et al., 2010), entre ellas, la sobreestimación de medidas (Boxer Wachler y Krueger, 1999).

A medida que terminaba el siglo XX, con la incorporación de la informática a nivel masivo, cambió la forma de estudiar la pupila, disminuyendo el sesgo del examinador y evitando errores técnicos como la cantidad de iluminación del lugar donde se desarrolla el estudio científico (Wilhelm y Wilhelm, 2003). Se introdujeron entonces nuevos métodos pupilométricos.

Por tanto, siguiendo la definición de León-Sarmiento et al., se considera a la nueva pupilometría dinámica como la medida y grabación del diámetro pupilar en función del tiempo, es decir, la medición de los diámetros basales en reposo y ante diferentes estímulos, mientras que la pupilografía es el análisis de dichas respuestas o fases (Leon-Sarmiento et al., 2008). El propósito de ambos procesos es el de proveer información acerca de la integridad de las vías autonómicas y valorar el impacto de algunos condicionantes en el reflejo pupilar. Este hecho puede servir de indicador para conocer el correcto o incorrecto equilibrio de los distintos sistemas nerviosos implicados.

Dado que el propio iris, estructura mecánica del RPL, es absolutamente visible detrás de la córnea transparente; es posible medirlo de forma fiable y válida mediante pupilometría infrarroja. De hecho, la sensibilidad luminosa de la pupila está restringida solo a la luz visible, con lo que no es estimulada por el infrarrojo. Por ello, los recientes instrumentos de medición pupilar, utilizan este tipo de iluminación para registrar la pupila en condiciones mesópicas y escotópicas. Se tratan éstas de condiciones que en épocas anteriores impedían el registro del diámetro pupilar por incapacidad del ojo del observador para poder medir en la oscuridad y por falta de visibilidad suficiente.

Básicamente, la cadena de medida de un pupilómetro dinámico contemporáneo consta de iluminación infrarroja, cámara, y algoritmo de detección pupilar. Existe un cuarto elemento, a menudo olvidado, pero fundamental, que es la transferencia de señal entre la cámara y el ordenador usado, para registrar los datos.

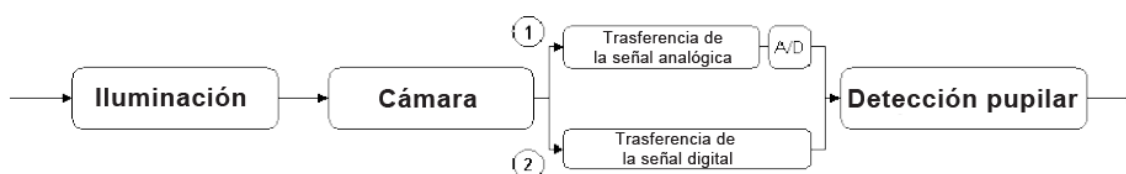


Figura 12. Diagrama de la medida en cadena en la adquisición de valores pupilométricos. La rama 1 corresponde a cámaras con output analógico y la rama 2, a cámaras con output digital.

En paralelo al desarrollo del hardware para los pupilómetros, se han diseñado potentes aplicaciones de software, como son los algoritmos de detección pupilar. El desarrollo y la progresión de estos en las pasadas décadas han sido variados. Básicamente, existen cuatro tipos de algoritmos:

a) Procedimientos de umbral, que se refieren a un método de segmentación de imagen que manipula las propiedades estadísticas de la distribución de brillo de la imagen (histograma) (Wingate, Hood, Shi, y Phan, 1998).

b) Procedimiento de curvatura, que es un algoritmo que utiliza las características de la curvatura del límite pupilar para determinar la porción visible de la pupila, lo que provee de estimaciones mejoradas del centro pupilar cuando éste es oscurecido por los artefactos (Zhu, Moore, y Raphan, 1999).

c) Procedimiento de detección de bordes, que es un algoritmo robusto basado en bordes para estimar los parámetros pupilares siendo capaz de relacionar la posición de la pupila con el limbo esclerocorneal (Iskander, Collins, Mioschek, y Trunk, 2004).

d) Procedimiento de contornos activos, que, más allá de las técnicas de segmentación simples, en imágenes complejas, busca utilizar técnicas más robustas con contornos que modelan las fronteras entre un objeto, el fondo y el resto de objetos de la imagen, descartando mucho más ruido (Jomier, Rault, y Aylward, 2004).

En un apartado posterior se dará una explicación más detallada de los resultados en términos de fiabilidad y confianza que han obtenido diversos estudios con pruebas de pupilometría en laboratorio. Sin embargo, a continuación, se incidirá en un tipo de estudio en ocasiones, coincidente, y en ocasiones, diverso al estudio de laboratorio, como es el caso del estudio que facilitan las técnicas clínicas de la respuesta pupilar a la luz.

3.3.4.2 Técnicas clínicas

Como ya se avanzó anteriormente, los reflejos son utilizados en neurología clínica para evaluar la función de nervios sensoriales y motores. Al ser involuntarios, estos sirven como “sensor” objetivo de la función neurológica. Además, como es sabido, el RPL, en concreto, puede ser fácilmente observado, no causa estrés o incomodidad en el paciente, y puede ser cuantificado en una consulta médica habitual. Incluso la simetría habitual del RPL a la estimulación de alguno de sus ojos, provee la

oportunidad de comparar el drive pupilomotor en ambos ojos de forma sencilla en clínica (Bremner, 2004).

Un gran número de técnicas clínicas y neurológicas se han establecido en la práctica médica para testear el RPL. El método original para detectar un reflejo pupilar aferente es originalmente atribuido a Galeno. Está basado en el principio de que si el paciente mira a una fuente de luz difusa pero direccional (por ejemplo, la ventana) y se cubre uno de los ojos, ambas pupilas se dilatan ligeramente dado que el drive pupilomotor total se reduce. En sujetos sanos, un grado similar de dilatación es observado sea cual sea el ojo ocluido. El test cover/uncover de Galeno es un test simple que no requiere un equipamiento especial, pero que ha visto reducido su uso en la clínica moderna por resultar poco práctico y poco sensible (Bremner, 2004).

La prueba neurológica que persiste hasta nuestros días es la prueba de swinging flash test originada por Levatin (Levatin, 1959) y optimizada después (Thompson, Corbett, y Cox, 1981). Como en el caso del cover/uncover test, se trata de una técnica para comparar el drive pupilomotor en los dos ojos. Este test producirá una constricción pupilar si la luz se emite sobre el ojo sano y una dilatación pupilar si la luz se dirige sobre el ojo cuyo nervio está lesionado.

De hecho, la técnica del haz de luz alternante puede detectar pequeños defectos pupilares aferentes relativos (RAPD). Este tipo de afección es un signo clínico de daño ganglionar y axonal de la retina. El grado de RAPD puede ser evaluado colocando en el ojo un filtro de densidad óptica neutra (Thompson et al., 1981), filtros polarizados cruzados (Arnold, 1990; Ramsay, Williamson, Parks, y Keating, 1995; Rosenberg y Oliva, 1990) o filtros ópticos específicos estriados como los filtros de Bagolini (McCormick et al., 2002) de valor incremental frente al ojo sano hasta que el RAPD es neutralizado.

El swinging flash test o haz de luz alternante es el test pupilar más usado en la práctica clínica. Es fácil de usar, y sólo requiere el estudio de una única pupila, además de ser fácilmente cuantificable y mucho más sensible que el resto de los métodos tradicionales. No obstante, requiere de práctica continuada, pues pueden diagnosticarse falsos positivos de RAPD por manifestaciones únicamente debidas a estimulación incompleta retiniana o estimulación fuera del eje visual en pacientes con estrabismo (Bremner, 2004) o por opacidades, disminuyendo la fuerza del drive pupilomotor del ojo contralateral (Lam y Thompson, 1990). Se trata, además, de un test comparativo, por lo que no puede detectar defectos bilaterales. Además, ha de

tenerse en cuenta que existe un RAPD fisiológico natural y puede ser objeto de confusión si se utiliza esta técnica (Kawasaki, Moore, y Kardon, 1996).

Un último test a considerar en esta revisión del estudio de la respuesta pupilar en la práctica neurológica, es el tiempo de ciclo pupilar (PCT), ya mencionado en apartados anteriores. Esta técnica, fue propuesta en 1978 por Miller y Thompson (Miller y Thompson, 1978) y su método se esquematiza en la figura 13. El método utilizado en el experimento original de Miller utiliza un haz enfocado que es lentamente desplazado (A, en la figura) hasta que éste sobrepasa el margen pupilar (B, en la figura). La pupila entonces se contrae (C, en la figura) y el haz se mantiene en esa posición hasta que el borde pupilar está definitivamente fuera del haz. La luz, en ese momento, no entrará por la pupila con lo que ésta volverá a dilatarse (D, en la figura) y después a contraerse (C, en la figura), produciendo persistentemente una oscilación pupilar.

El tiempo del ciclo pupilar (PCT) es estable en diferentes situaciones y repetible en períodos de tiempo extensos y no necesita de un ojo que sirva de patrón de comparación. Por tanto, si los músculos del iris están normalmente inervados, el tiempo de ciclo pupilar es directamente dependiente de la velocidad de la conducción nerviosa, y del número y fuerza de los impulsos del nervio óptico. Sin embargo, tanto las condiciones del background y estímulares no están predeterminadas y son muy variables entre experimentos (Bremner, 2004) y, además, este método es poco sensible a la disfunción del nervio óptico en comparación con el haz de luz alternante (Cox, Thompson, Hayreh, y Snyder, 1982).

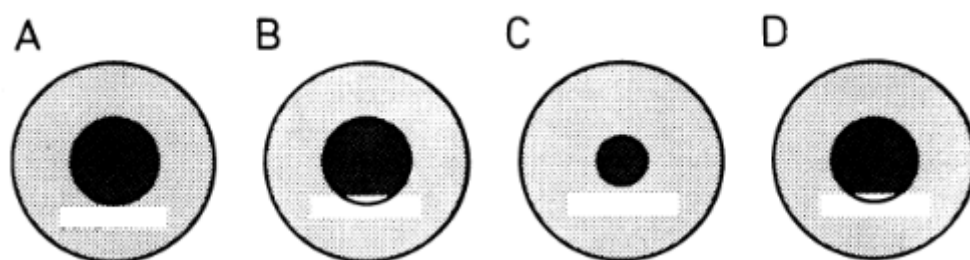


Figura 13. Esquema metodológico del experimento tomado de Miller y Thomson (1978).

3.3.4.3 Técnicas de laboratorio

Las técnicas preliminares de la pupilometría dinámica mesópica comenzaron con el desarrollo de las cámaras de video infrarrojas en 1958, permitiendo grabar de forma

continúa el diámetro pupilar en oscuridad (Lowenstein y Loewenfeld, 1958). Desde entonces, se desarrollaron técnicas en las que los parámetros estimulares eran convenientemente obtenidos, registrados a partir de la utilización de fotoestimuladores electrónicos.

Las variables habituales cuyo registro posibilitan los métodos de laboratorio son el diámetro pupilar basal, la amplitud de respuesta del RPL, el porcentaje de amplitud con respecto al diámetro inicial, la velocidad de constricción media y máxima, y el tiempo de dilatación al 75% de la amplitud refleja. Existen, además, otros índices menos estudiados como son el índice de inquietud pupilar, y la tasa de variabilidad pupilar acumulada.

Como ya se ha mencionado, lo más común es utilizar la imagen infrarroja para el registro pupilar. En estudios de laboratorio este tipo de imagen es especialmente válido pues elimina la reflexión especular incontrolada al iluminar continuamente el ojo de forma controlada. Otro de los beneficios de la iluminación infrarroja es que la pupila se convierte en la característica más destacada de la imagen. Típicamente, el registro de la cámara infrarroja se realiza con una cámara con sensibilidad en el infrarrojo cercano (IR-A: 750-1400 nm) del espectro electromagnético. La elección de la resolución temporal es dada normalmente en frames grabados por segundo.

Existen varios estudios que comparan la coherencia en la medida de diversos pupilómetros utilizados en laboratorio. Por ejemplo, la pupilometría dinámica infrarroja ha mostrado un registro de datos más reproducible que el de las cartas de Rosembaum (Boxer Wachler y Krueger, 2000), que proporcionan, por regla general, valores sobrevalorados. Asimismo, en comparaciones resultantes frente a otros aparatos, la pupilometría dinámica infrarroja ha sido calificada como muy precisa, con varianzas de medida menores y, por tanto, mayor fiabilidad que otros dos métodos de interés como son el aberrómetro de frente de onda y el pupilómetro portátil (Schmitz, Krummenauer, Henn, y Dick, 2003). Estos autores han destacado la utilidad intrínseca de los métodos de pupilometría por infrarrojos, que ofrece los datos de forma dinámica y en tiempo real, a diferencia de los dos últimos métodos comentados.

También existen estudios en los que la pupilometría binocular se resiente frente a otros métodos de comparación. Por ejemplo, en un trabajo reciente, al comparar la precisión de dos pupilómetros: un autorrefractómetro pupilómetro binocular (WAM 5500 Binocular Accommodation Instrument-AIT Industries) y un pupilómetro de oclusión monocular (Neuroptics-Neuroptics Inc.) se concluyó que el pupilómetro binocular carece de suficiente precisión para la medición clínica del diámetro basal en

la oscuridad en comparación con el pupilómetro de oclusión (Bradley, Cohn, Wu, y Brown, 2011).

En general, se puede deducir que una de las características del RPL valorado por método pupilométrico de laboratorio por infrarrojo es la amplia variabilidad de las medidas pupilares en población sana (Ellis, 1981; Fotiou et al., 2007; Hong, Narkiewicz, y Kardon, 2001; Kawasaki, Moore, y Kardon, 1995). De hecho, según Bremner (Bremner, 2004), los registros individuales del RPL podrían únicamente servir fiablemente para el diagnóstico si se comparasen las respuestas de amplitud con las respuestas del ojo contralateral. Por el contrario, por ejemplo, si se testeasen ojos únicos, sin comparación con su par, la videopupilometría por infrarrojos y la perimetría pupilar serían menos sensibles que los tests visuales estándares en detectar disfunciones.

La perimetría pupilar, a la que se ha hecho referencia en el párrafo anterior, es otra técnica para medir el RPL en laboratorio. Tiene la particularidad de que la estimulación lumínica no se realiza en la totalidad de la pupila sino exclusivamente en un área, en función de la posición del estímulo en el campo visual (Alexandridis y Krastel, 1990; Yoshitomi, Matsui, Tanakadate, y Ishikawa, 1999). Otra técnica novedosa es la perimetría objetiva con pupilografía multifocal, que estudia los efectos de la presentación luminosa en distintas zonas del área macular según intensidad y localización y que podría suponer una prueba diagnóstica de interés para la degeneración retiniana asociada a la edad (Sabeti, James, y Maddess, 2011). Dichas técnicas necesitan de más exploración aunque sus hallazgos son prometedores.

3.3.5 Influencia del sistema nervioso autónomo en la pupila

Aunque el sistema nervioso autónomo requiere la implicación del sistema parasimpático y simpático, en este apartado, debido a su especial influencia, se va a profundizar en el análisis de la implicación del sistema simpático en el diámetro pupilar basal y en el RPL.

En un simple análisis anatómico y funcional referido a la vía simpática periférica, conviene recordar que ésta deriva del área A1/A4 del tronco cerebral, proyecta hacia el hipotálamo y desciende a través de la médula oblongata y la médula cervical. Las fibras se alejan de la médula espinal a nivel C8 y T2 para sinaptar en el ganglio cervical superior. Finalmente, estas fibras, atraviesan el ganglio ciliar sin sinaptar, convirtiéndose en los nervios ciliares largos y sinaptan con el músculo dilatador pupilar. El sistema simpático periférico juega un rol importante en modular la función

de dilatación de la pupila ante estímulos psicosensores. Cualquier lesión a lo largo de esta cadena resulta en alteraciones como el síndrome de Horner en el ser humano.

Como es sabido, una de las influencias simpáticas sobre el tamaño pupilar en humanos ocurre a través de la inervación simpática periférica del músculo dilatador. Además de esta interacción, puede darse otra intervención de manera indirecta y combinada con otro mecanismo, que supone la inhibición central del sistema parasimpático sobre el músculo esfínter (Wilhelm et al., 2002). Para la sección de discusión de los resultados de esta tesis, resulta interesante exponer el mecanismo de acción de la inhibición central simpática sobre la actividad neural de EW tanto en personas sanas como en personas afectadas por traumatismos o procesos neurodegenerativos.

La inhibición central podría jugar un papel importante en el control de la respuesta pupilar, modulando el input parasimpático con un resultado motor en el músculo esfínter. Precisamente, los núcleos EW, en ausencia de influencias externas, muestran una tasa alta de disparo de las neuronas pupiloconstrictoras (Sillito y Zbrożyna, 1970) en estados de sueño o anestesia profunda (Barbur, 2004), cuando el control inhibitorio al núcleo EW es presumiblemente menos efectivo. Sin embargo, en situación de vigilia, esta inhibición estaría más presente a través de dos mecanismos de actuación: una vía noradrenérgica que conecta el locus coeruleus con el núcleo Edinger Westphal, y una segunda vía que conecta los núcleos A1/A5 del tronco del encéfalo con los núcleos EW por medio del hipotálamo (Szabadi y Bradshaw, 1996).

Por otro lado, se ha postulado que existe un declive en la inhibición central de los núcleos de EW a medida que aumenta la edad y se ha sugerido éste como el mecanismo que subyace al fenómeno de la pupila miótica, que se registra en el diámetro pupilar basal en personas mayores (Winn et al., 1994). Este proceso de inhibición es corroborado con el gran tamaño y la estabilidad de la pupila de individuos con alto tono simpático por lesiones posgeniculadas (Wilhelm et al., 2002). Igualmente, está ampliamente documentado que todos los eventos mentales, como emociones, miedo, esfuerzo cognitivo o físico, dan lugar a una respuesta de dilatación pupilar, no sólo excitando la vía del dilatador pupilar simpático sino también inhibiendo los núcleos EW, y, por tanto, causando la relajación del músculo esfínter contribuyendo así a la dilatación pupilar (Granholm y Steinhauer, 2004; Steinhauer, Siegle, Condray, y Pless, 2004). En resumen, tanto la edad, como los eventos mentales y el sueño muestran este tipo de inhibición central sobre la vía parasimpática por medio del sistema nervioso simpático.

Asimismo, estudios experimentales con sujetos sanos han mostrado que existen respuestas pupilares a estímulos específicos que no implican cambios en el nivel de luz en la retina, como son la longitud de onda del estímulo, su estructura espacial y el movimiento coherente del mismo y que podrían estar mediados a través de está inhibición central simpática de la vía parasimpática (Barbur et al., 1992; Drew, Sayres, Watanabe, y Shimojo, 2001; Sahraie y Barbur, 1997).

Entre los estudios con sujetos afectados, uno de los trabajos clave que consolidó una nueva línea de investigación es el que analizó la influencia de la longitud de onda del estímulos sobre el reflejo pupilar en sujetos con ausencia de visión en un solo campo visual (Weiskrantz, Cowey, y Barbur, 1999). En este estudio, se demostró que aunque la respuesta esperada era un RPL debilitado y ralentizado, sin embargo existía una respuesta pupilar residual de constricción estable si se aplicaban rejillas acromáticas isoluminantes. Esta reacción residual a pesar de que el estímulo fue restringido a áreas corticalmente ciegas del campo visual podría reflejar precisamente la inhibición central de la vía parasimpática referida en líneas precedentes. Esto se produciría a través de la perturbación de la actividad neural en las áreas extraestriadas del cortex, como resultado del procesamiento de ciertos atributos estímulares, que causarían un debilitamiento transitorio de la inhibición central simpática de las neuronas del núcleo EW. De esta manera, la constricción observada en la pupila sería fruto de un aumento de la estimulación parasimpática al esfínter pupilar, resultado del debilitamiento de la inhibición central simpática (Barbur, 1995). Posteriores investigaciones en sujetos con ceguera de hemis campo visual ratificaron esta hipótesis (Tan, Kondo, Sato, Kondo, y Miyake, 2001). Otros hallazgos en individuos afectados con patología podrían ratificar igualmente la inhibición simpática central. Por ejemplo, en el síndrome de Parinaud, la presentación de rejillas cromáticas isoluminantes o estímulos coloreados pueden dar lugar a respuestas pupilares normales en estos sujetos, aunque el reflejo pupilar estándar esté reducido a la mínima expresión (Wilhelm et al., 2002).

Son todos estos datos, en definitiva, en los que se apoya la hipótesis original de los investigadores según la cual las respuestas pupilares al color, a rejillas, a movimiento coherente y las propias oscilaciones producidas por la falta del sueño, se deben a una modulación a nivel del sistema nervioso central por medio de las vías simpáticas sobre el núcleo EW y no se apoyan en el normal funcionamiento de los núcleos pretectales que están implicados en el RPL. Otros investigadores, en cambio, defienden que las respuestas pupilares podrían estar mediadas por vías visuales funcionalmente distintas (no necesariamente anatómicamente distintas) tales como la

vía magnocelular y la vía parvocelular (Young, Han, y Wu, 1993; Young y Kennish, 1993).

3.3.6 Lesiones en las vías pupilares

Ya hace 120 años se describió la atenuación del RPL cuando se trataba de trastornos del nervio óptico. De hecho, ciertas patologías están asociadas a la vía visual aferente unilateral anterior al quiasma, desde desprendimiento de retina a degeneraciones maculares o lesiones del nervio óptico como el glaucoma (Lagrèze y Kardon, 1998). En estos casos, la retina afectada o el nervio óptico, resultan ser menos sensibles a los estímulos de luz, induciendo un reflejo pupilar menor.

El nivel de este déficit es relativo a la ejecución de la vía contralateral, de ahí que se denomine a éste como defecto de pupila relativo aferente (RAPD), un signo clínico ya revisado en anteriores apartados. Por ejemplo, en el caso de que una misma luz sea aplicada a dos pupilas, si se apreciase una asimetría en la respuesta pupilar, esto indicaría que una de las dos vías aferentes está dañada. Como consecuencia, la transmisión de la señal desde la retina al nervio oculomotor en el cerebro medio (donde los inputs de ambos ojos son integrados) resultaría atenuada o bloqueada.

El RAPD puede ser detectado en el laboratorio y de forma muy precisa, a través de varias variables como la amplitud de constricción y la velocidad de constricción (Wilhelm, 1998). En cambio, en la práctica clínica, se utiliza el haz de luz alternante (Levatin, 1959) que, como ya se ha explicado, consiste en el movimiento alternante de una luz flash en los dos ojos. En sujetos sanos, las pupilas se contraen y dilatan ante la estimulación luminosa, dirigiendo la luz primero sobre un ojo y luego sobre otro. En caso de un defecto de las vías aferentes, la igualdad pupilar bilateral se desequilibra cuando el ojo o la vía visual dañados son estimulados (Bremner, 2004). La diferencia puede ser medida y graduada, como originalmente se propuso, utilizando filtros fotográficos de densidad óptica neutra de potencia incrementada sobre el ojo sano y buscando la eliminación del defecto (Thompson et al., 1981).

Las lesiones del sistema simpático pueden deteriorar selectivamente la dilatación en respuesta a arousal o activación. Además, las lesiones en las fibras simpáticas producen miosis, como en el caso del síndrome de Horner (Davagnanam, Fraser, Miszkziel, Daniel, y Plant, 2013). También se ha observado que las personas mayores sanas y las personas con la enfermedad de Alzheimer poseen una dilatación reducida posterior al cese de la estimulación luminosa, lo que se ha atribuido al deterioro simpático (Bitsios, Langley, et al., 1996; Prettyman, Bitsios, y Szabadi, 1997).

En contraste, las lesiones en el sistema parasimpático deterioran el RPL y provocan midriasis (Elmalem, Biousse, y Newman, 2010).

Por otro lado, el examen de la respuesta pupilar a la luz y acomodación puede proveer de información precisa con respecto a la localización de una lesión dentro de las vías simpáticas, parasimpáticas, vías visuales anteriores o el tronco del encéfalo (Shams, Bremner, Smith, Plant, y Matthews, 2010). La investigación clásica ha asociado todas las lesiones del cerebro medio rostral (por ejemplo, síndrome de Parinaud) como conductoras a una disociación de la respuesta pupilar, de forma que se reduce el reflejo pupilar a la luz, y se mantiene la magnitud de la respuesta pupilar a la acomodación (Wilhelm et al., 2002).

Sin embargo, estudios recientes han caracterizado un patrón de respuestas algo diferente ante determinadas lesiones del cerebro medio rostral, concretamente, ante lesiones localizadas en el acueducto de Silvio (Shams et al., 2010). De esta manera, al sufrir esta alteración, una de las pupilas muestra una atenuación del RPL, mientras que la otra se mantiene estándar, aunque en la respuesta pupilar de acomodación no se observa ningún desequilibrio. La causa de estos signos pupilares asimétricos sería la interrupción de los circuitos de los núcleos olivares pretectales a los núcleos de EW en un único hemisferio.

De esta manera, Shams, Bremner y colaboradores (Shams et al., 2010) enumeran y recopilan tres tipos de lesión a nivel de cerebro medio rostral que afectan a la respuesta pupilar. En primer lugar, los pacientes con síndrome de Parinaud muestran una disociación de la respuesta pupilar bilateral. Las lesiones de este tipo comprimen la comisura posterior y el núcleo olivar pretectal (NOP) contralateral adyacente, invalidando las proyecciones cruzadas y no cruzadas a EW. En segundo lugar, la patología a nivel cerebro medio rostral que implica a la región del acueducto de Silvio, puede causar disociación de la respuesta pupilar unilateral. Un tercer patrón de lesión es aquél que se da a nivel dorsolateral en el entramado retinotectal hacia NOP. En este caso, se registra un RAPD ya que el drive pupilomotor proviene, en mayor medida, de fibras cruzadas. Esta conclusión deriva del hecho de que un estímulo discreto de luz produce mayor RPL cuando se presenta en retina nasal que cuando su estimulación es en retina temporal (Kardon, Kawasaki, y Miller, 2006).

Otro signo de lesión de las vías pupilares que debe ser comentado en esta introducción es la constricción pupilar crónica. Dicha constricción es indicativa de una interrupción en la vía simpática que inerva el músculo dilatador del iris (Ezpeleta Echávarri, 2007). Está comprobado que estas lesiones ocurren en el hipotálamo, el

tronco del encéfalo, el nervio espinal torácico lateral superior, los ganglios simpáticos, o las fibras simpáticas periféricas que conducen al ojo.

En contraste, una dilatación pupilar crónica es producida por la interrupción del input parasimpático que activa el músculo esfínter que contrae la pupila. Esta interrupción de la señal puede ocurrir desde los núcleos pretectales y los núcleos Edinger Westphal del cerebro medio, a través de la vía del nervio oculomotor (III par craneal) al ganglio ciliar de la órbita. Las lesiones más comunes en este sentido son las producidas por los accidentes vasculares del cerebro medio, y algún tipo de hernia producido por tumores, o aneurismas de la carótica interna (Ezpeleta Echávarri, 2007).

En definitiva, la respuesta pupilar se ha mostrado una herramienta muy útil para comprobar el funcionamiento del nervio óptico de forma normal y/o confirmar la alteración del nervio óptico. Cuantificar el defecto aferente pupilar a veces tiene valor diagnóstico, especialmente si se trata de pacientes que se sospecha con patología dual. Por último, en cuanto al diagnóstico de alteraciones en el nervio óptico, el estudio pupilar puede servir para realizar un diagnóstico diferencial cuando el diagnóstico no está claro (Bremner, 2004).

3.3.7 Aplicaciones de las medidas pupilares

Actualmente, las aplicaciones más habituales que requieren medidas pupilares son las relativas a procesos prequirúrgicos previos a intervenciones de cirugía refractiva. En los últimos años en España se han cuantificado más de 400.000 operaciones al año entre facoemulsificación de cataratas y reducción de miopía, hipermetropía y astigmatismo. En todas ellas, la valoración del diámetro pupilar es crítica, debido a las consecuencias en la percepción visual que pueden producirse relacionadas, generalmente, con la dispersión y la difracción de la luz en el interior del ojo y en el borde pupilar.

A continuación, destacamos otros campos de aplicación de la pupilometría dinámica dentro del ámbito de las neurociencias:

3.3.7.1 La pupila como marcador de la atención y procesos mentales

Como apunte preliminar en el inicio de este apartado, en el que se relaciona la pupila y los procesos cognitivos, se debe aclarar, para evitar confusiones, que incluso en la propia literatura sobre pupilometría de la atención, se utiliza el término reflejo pupilar a la luz. Esto puede provocar confusión cuando probablemente lo más

adecuado sería usar el término reflejo pupilar o reflejo pupilar cognitivo. Ahora bien, la bibliografía consultada utiliza el primer término, que esta tesis mantiene, para facilitar la búsqueda bibliográfica al lector. Solo se puede justificar el uso del término RPL de manera incorrecta debido a que los sistemas implicados son semejantes pero en un caso el estímulo es luminoso (L), mientras que en los estudios que a continuación se explican, el estímulo provocador de la variación pupilar es cognitivo (C). Por ello, en las líneas de este apartado puede utilizarse el término RPL, y, aunque esto no sea exacto, se mantiene el acrónimo en esta introducción para ser fiel a los documentos elaborados por los diversos autores seleccionados.

Como el propio nombre del apartado indica, las respuestas pupilares reflejan varios tipos de control de la actividad cognitiva, entre ellos el de la atención, aunque el mecanismo por el cual ocurre, continúa siendo una incógnita. En el caso de los estudios dedicados a los recursos atencionales analizados a través del movimiento pupilar, el examen de los movimientos pupilares a gran escala, como el RPL, ha sido hasta ahora poco utilizado pues los investigadores no concebían teóricamente una interacción entre un proceso cognitivo y una respuesta refleja. En cambio, se entendió como posible la relación entre la atención y las fluctuaciones pupilares rápidas (hippus), que no pueden ser observadas a simple vista y que reflejan cambios dinámicos del sistema nervioso central que subyacen a procesos cognitivos (Beatty y Lucero-Wagoner, 2000). La figura 14 muestra oscilaciones pupilares debidas a la atención.

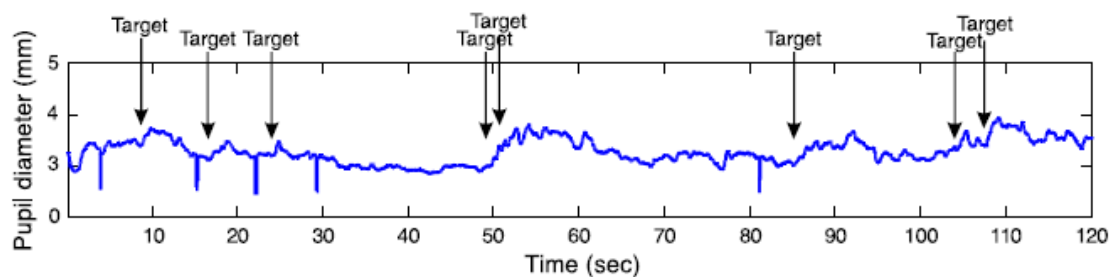


Figura 14. Ejemplo de la fluctuaciones pupilares durante una sesión de registro pupilométrico ante las presentaciones de tareas con componente cognitivo, que reflejan la dilatación consecuencia de la aparición del target indicado para la resolución de la tarea. Tomado de Privitera, Renninger, Carnet, Klein y Aguilar (2010).

Dada esta relación con los procesos de atención, la pupila puede conceptualizarse como una “ventana a la mente”. Por ejemplo, habitualmente se ha venido asociando la midriasis (dilatación pupilar) con eventos personales o sociales, como un indicador de la actividad de procesamiento de la información, lo que implica

un nivel de arousal mayor (Just y Carpenter, 1993). Además, tamaños pupilares mayores se registran ante tareas comprometidas, no tanto debido a un mayor esfuerzo cognitivo, sino como muestra de la amplitud de los recursos cognitivos disponibles (Van Der Meer et al., 2010).

En un reciente experimento sobre la influencia de la atención en la midriasis, se demostró que la novedad del estímulo visual afecta al sistema pupilar, de manera que el diámetro es mayor cuando se observan elementos no presentados anteriormente. Es decir, una mayor midriasis implicaría un mayor arousal supuestamente dirigido a explorar estímulos nuevos. En el mismo estudio, se muestra cómo el diámetro pupilar se mantiene estable cuando los estímulos son conocidos, incluso habiéndose presentado de forma subliminal y sin conciencia (Yoshimoto, Imai, Kashino, y Takeuchi, 2014).

Igualmente se ha comprobado que, en etapas tempranas, los bebés de cuatro meses reaccionan dilatando la pupila ante escenas inusuales en su vida cotidiana (Gredebäck y Melinder, 2011). Este tipo de dilatación pupilar como reacción a algún elemento que capta la atención se mantiene a medida que avanza la edad sin reducirse su magnitud (Kim, Beversdorf, y Heilman, 2000). Este hecho resulta de mayor interés debido a que el diámetro pupilar correlaciona con la actividad de la tasa cardíaca o con la conductancia de la piel (variables simpáticas) en tareas de esfuerzo cognitivo, indicadores fisiológicos todos ellos, que se reducen con la edad (Kahneman, Tursky, Shapiro, y Crider, 1969).

Los investigadores que se han centrado en la pupila como marcador de la atención han aportado, recientemente, nuevos y sorprendentes hallazgos (Privitera, Renninger, Carney, Klein, y Aguilar, 2010). Se ha descubierto que no solo la dilatación del diámetro pupilar basal se relaciona con la actividad cognitiva y los recursos atencionales, sino que el mecanismo neural del propio RPL puede estar implicado en la función cognitiva o atencional de los sujetos. En su investigación, demuestran que en tareas sencillas, y con instrucciones previas poco definidas se observa, no sólo una mayor dilatación (acorde a la novedad del estímulo tal y como se ha mencionado anteriormente), sino una sorprendente constricción previa cuando se presentan los estímulos de la tarea sin participación de cambios luminosos. Sin embargo, cuando las instrucciones fueron claras y reducían la incertidumbre acerca del estímulo de trabajo, la constricción se reducía ampliamente (es decir, la pupila se reducía menos) y la dilatación ocurría antes (es decir, el período de latencia era menor). Dicha constricción no era explicable en términos de luminosidad del estímulo, ya que el diseño del

experimento propuso estímulos isoluminantes para que no interfirieran con el resto de las variables.

Los mismos investigadores han postulado que la constricción pupilar observada ante estímulos novedosos actúa como un disparador con el que el sistema locus coeruleus-sistema noradrenérgico (LC-NA) pueda situarse en modo fásico, para ejecutar adecuadamente la tarea, o en modo tónico, para obviar la misma y poder explorar el ambiente (Privitera et al., 2010). Dicha hipótesis está de acuerdo con la propuesta de Aston-Jones y Cohen, que asumen que el sistema LC-NA se activa en respuesta a procesos de decisiones entre “explotación” y “exploración” de la tarea, siendo el diámetro pupilar basal un reflejo de la actividad tónica de dicho sistema (Aston-Jones y Cohen, 2005). Estas respuesta ante luminancia aparente podrían estar moduladas por inputs desde la vía visual genículo-cortical (Barbur, 2004).

Basado en los trabajos anteriores, y con nuevas aportaciones, se diseñaron dos recientes experimentos donde se relacionaron procesos mentales y cambios pupilares como respuesta a estímulos isoiluminantes con distinta información. Por un lado, se utilizaron estímulos de igual luminancia para analizar la posible constricción pupilar; concretamente, al presentar dos estímulos semejantes en cuanto a luminosidad con distinta apariencia lumínica, los observadores, influenciados por la apariencia del objeto, presentan una constricción pupilar mayor para el estímulo de apariencia más luminosa (Binda, Pereverzeva, y Murray, 2013a). Por otro lado, en un segundo trabajo, los investigadores utilizaron una fotografía del sol con luminosidad reducida y otra imagen con mayor luminosidad de otro objeto. Los resultados demuestran que los procesos mentales de reconocimiento y de interpretación de la mente inducen a error, obteniendo mayores respuestas de constricción pupilar cuando se percibe la imagen del sol. Estos dos hallazgos son claramente sorprendentes dentro de la línea de investigación en la que se implican los procesos mentales en los cambios o variaciones en el diámetro pupilar (Binda, Pereverzeva, y Murray, 2013b).

Al mismo tiempo, los trabajos contemporáneos de Mathôt y colaboradores defienden que la constricción pupilar es un mecanismo de temprana selección cognitiva, y constituye un primer paso en la jerarquía del procesamiento visual de la imagen utilizando niendo en juego los recursos atencionales (Mathôt, Van der Linden, Grainger, y Vitu, 2013). Dadas sus implicaciones, dichos autores proponen unificar los estudios de eye tracking de los movimientos oculares sacádicos con los datos obtenidos por pupilometría dinámica.

Como último apunte, existe una línea de investigación en la que la dilatación pupilar interviene de forma preminente, pero que en este caso se refiere a la respuesta emocional del observador a rostros con diámetros pupilares contraídos o dilatados. Según la metodología esquematizada en la figura 15, en un experimento reciente, cuando se presentaban ojos midriáticos a un sujeto experimental, se registraba una mayor activación amigdalal en el individuo observador de la imagen (Amemiya y Ohtomo, 2012).

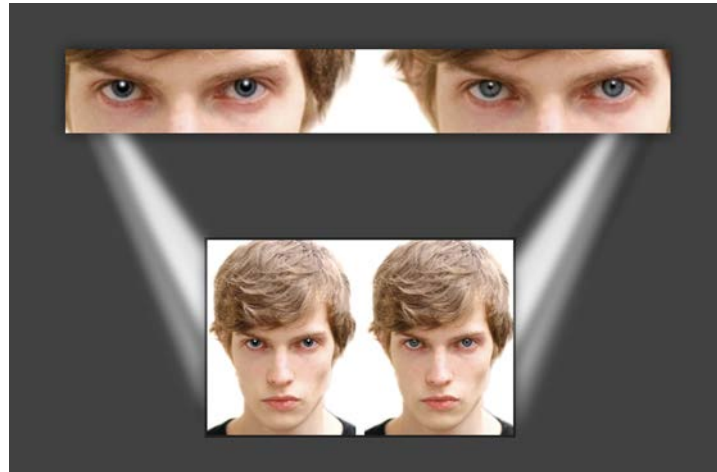


Figura 15. Rostros que simulan un experimento del efecto de la dilatación pupilar en la activación amigdalal. Tomado de Amemiya y Ohtomo (2012).

3.3.7.2 La pupila como indicador de la función del sistema nervioso

Con respecto a estudios que utilizan la respuesta pupilar para conocer el funcionamiento del sistema nervioso, la pupila se ha interrelacionado con dos grupos de medidas.

En primer lugar, se estudió la asociación entre la respuesta pupilar y otras variables de carácter autonómico. Por ejemplo, se demostró que tanto el diámetro pupilar como la latencia de constricción correlacionaban significativamente con parámetros referentes a la variabilidad de la tasa cardíaca, mientras que la amplitud relativa de respuesta pupilar correlacionó con la variabilidad de la presión sanguínea (Bär et al., 2009). Además, utilizando estimulación de longitud de onda media (565 nm), se trató igualmente de determinar el efecto del entrenamiento físico sobre la función autonómica a través de la pupilometría (Capão Filipe et al., 2003). En este estudio, se concluyó que el entrenamiento físico genera mayores valores en algunas variables del RPL que representan una mayor actividad del sistema parasimpático

(mayor amplitud y mayor porcentaje de amplitud respecto al diámetro inicial), y menores valores por parte de variables que representan una menor actividad simpática (mayor tiempo de redilatación para conseguir el 75% del diámetro inicial); todo ello, en sujetos sometidos a entrenamiento habitual y profesional.

En segundo lugar, destaca una línea de investigación que relacionó la respuesta pupilar con respuestas propias del sistema nervioso central, de manera que la pupila informó acerca del grado de relación que posee su mecanismo con la respuesta del SNC. Por ejemplo, la posibilidad de la influencia del color del estímulo en la respuesta pupilar ha abierto nuevas vías de estudio en este sentido. Se obtuvo una respuesta pupilar más amplia, con mayor latencia y más sostenida, ante estímulos de rejillas isoiluminantes de diferentes colores en comparación con lo que ocurre ante estímulos isocromáticos de diferentes luminancias (Tsujimura, Wolffsohn, y Gilmartin, 2001). Esta respuesta diferenciada al color sugiere una implicación directa o indirecta de la vía parvocelular en el sistema pupilar.

Por todo esto, dichos autores animan a investigar la vía retinocortical a través de la medición pupilar. Para esta tesis doctoral se tuvo en consideración esta línea de investigación, que permitió, como se verá en los apartados correspondientes, el diseño en el que se utilizan como estímulos del RPL luces de diferente longitud de onda. Por otro lado, de importante aplicación práctica, Tsujimura y colaboradores sugieren la posibilidad de detectar el daño en el campo visual por glaucoma mediante de medidas del reflejo pupilar, que pueden ser más identificativas que los métodos psicofísicos tradicionales. Su explicación es que, dado que muchos sujetos de edad avanzada pueden mostrar gran variabilidad en las mediciones psicofísicas subjetivas, se podrían utilizar estímulos de alto contraste para aislar el mecanismo cromático del RPL (objetivas), lo que mejoraría el ratio señal—ruido de la respuesta pupilar. De esta manera, se reduciría la variabilidad de los registros. Además, en contraste con las medidas psicofísicas, las valoraciones pupilares pueden proveer mayor información acerca de las características temporales de la vía visual.

El estudio de la participación de las neuronas melanopsínicas por su específica respuesta a longitudes de onda, está igualmente colaborando en la formulación de nuevas preguntas a los investigadores acerca del funcionamiento del SNC a través del conocimiento del RPL. Por ejemplo, los estudios, ya mencionados, consistentes en estimulación luminosa de duración amplia o prolongada (McDougal y Gamlin, 2010; Mure et al., 2009) muestran respuestas pupilares específicas en función de la longitud de onda del estímulo. Ambos estudios sugieren que, con independencia de las aportaciones que pueda realizar el estudio del RPL, son muchos los trabajos de

investigación que se han de realizar para conocer del procesamiento del mecanismo neural del RPL, lo que hace más interesante conocer los circuitos aferentes y eferentes y su relación de estos con otros núcleos neurales.

3.3.7.3 La pupila como indicador de enfermedades nerviosas o sistémicas

Actualmente, el estudio de la pupilometría ha avanzado de manera considerable adaptándose a la tendencia del diagnóstico por medidas objetivas y cuantificables. Las últimas técnicas se han diseñado para detectar alteraciones nerviosas o sistémicas. Los resultados del RPL podrán indicar, no sólo el anormal funcionamiento del mismo “per se”, sino también permiten inferir las causas que subyacen tras un anómalo funcionamiento del RPL y, en consecuencia, predecir enfermedades con rasgos autonómicos e incluso, en según qué casos, que afectan al sistema nervioso central.

Algunas anormalidades pupilares estáticas frecuentes en la consulta clínica de urgencias y que son indicativas de algún tipo de daño del SNA o del SNC, o incluso debidas al uso de sustancias psicotrópicas (Beatty y Lucero-Wagoner, 2000) son ejemplos propuestos de la utilidad de estas valoraciones para diagnóstico neurológico. Además, en la práctica clínica, se ha observado que las diferentes reacciones pupilares del RPL y no únicamente los valores estáticos, pueden utilizarse como un importante indicador del trauma intracraneal (Taylor et al., 2003).

Las investigaciones anteriores son propuestas de diagnóstico clínico realizadas en servicios de emergencias. Sin embargo, los intentos de detección precoz más relevante en el ámbito de la investigación en pupilometría se refieren a las alteraciones progresivas y neurodegenerativas, que abren importantes y profusas líneas de investigación. Por ejemplo, en trabajos clásicos se reportaron hallazgos de pacientes con la enfermedad de Alzheimer (EA) probable, que mostraron un diámetro pupilar basal reducido, mientras que la amplitud y la máxima dilatación del reflejo por oscuridad y, además, la amplitud y el tiempo de recuperación del 75% del diámetro basal del RPL, fueron de menor magnitud que en el grupo control (Prettyman et al., 1997). Estos autores defendieron que, a la vista de sus resultados, se podía inferir un compromiso en la función de la rama simpática en los enfermos de EA. En un estudio reciente pupilométrico realizado en fase asintomática con portadores de una mutación autosómica dominante de EA, que desarrolla EA a edades tempranas, se ratificaron las sospechas de la relación entre las variaciones pupilométricas y la EA. En concreto, los enfermos mostraron un tiempo de redilatación mayor y un porcentaje de recuperación menor que los sujetos normales (Frost et al., 2013). La pupilometría tuvo

en este caso un 100% de sensibilidad y un 100% de especificidad, algo no muy habitual en este tipo de estudios. En cualquier caso, las bases teóricas y anatómicas para esta relación no están claras para ninguno de los dos últimos trabajos mencionados, como ya se ha comentado en otros apartados, teniendo en cuenta la doble diferenciación funcional del núcleo EW: colinérgica y central (Kozicz et al., 2011).

Asimismo, el RPL ha sido caracterizado en estudios acerca de otras patologías con específica naturaleza autonómica. En general, el 66% de los afectados por disautonomías posee irregularidades pupilares bilaterales con una mayor presencia de déficits simpáticos. En cualquier caso, es de reseñar que, hasta el momento, no se han detectado correlaciones específicas entre variables pupilares concretas y enfermedades específicas que cursan con déficit autonómicos; de tal forma, que aún no se ha conseguido que estas valoraciones sirvan como diagnóstico diferencial (Bremner y Smith, 2006).

En contraposición con la tesis anterior, se ha mostrado recientemente, en el estudio concreto de la enfermedad disautonómica de la ganglioneuropatía autonómica autoinmune, una clara redilatación pupilar por parte de los enfermos tras la estimulación luminosa, incluso en condiciones fotópicas. Ésta redilatación se registra con mayor anterioridad a la mostrada por el grupo control e incluso que la mostrada por el grupo afectado por alguna otra disautonomía (Muppidi et al., 2012).

Por otro lado, la enfermedad de Parkinson (EP) trastorno neurodegenerativo crónico de gran incidencia a nivel mundial, es una de las disautonomías más estudiadas mediante la pupilometría. En concreto, en etapas tempranas de la enfermedad, cuando incluso no existe disautonomía manifiesta, se ha encontrado un aumento de la latencia, y una reducción de la amplitud, la velocidad y aceleración de constricción máxima (Giza, Fotiou, Bostantjopoulou, Katsarou, y Karlovasitou, 2011). Este déficit significativo en el RPL, para pacientes de Parkinson sin síntomas autonómicos, se ha corroborado en otros estudios, que han sugerido además, debido a su correlación con medidas de imagen de transporte de la dopamina, que el sistema autonómico no sufre un deterioro tan temprano en la EP como se creía e anteriores investigaciones (Giza et al., 2012). Además, para esta enfermedad, se han explorado en paralelo las variables cardíacas y pupilares, en este tipo de enfermos, en busca de su posible correlación (Jain et al., 2011). Las disfunciones en este caso se demostraron paralelas y los autores sugieren la existencia de centros de integración autonómica centrales compartidos.

Otro trastorno con compromiso autonómico, la esclerosis múltiple (EM), ha sido igualmente estudiado mediante métodos pupilométricos. En concreto, se han detectado valores significativamente reducidos tanto para el diámetro basal como para el tiempo de recuperación del 75% (Surakka et al., 2008). Los investigadores concluyeron que el sistema simpático y el sistema parasimpático se encuentran alterados de forma temprana en la EM, aunque de forma difusa y no generalizada. Otro estudio sobre la progresión evolutiva del trastorno, durante las fases de desmielinización de la EM, ha encontrado que las respuestas pupilares al color pueden verse más afectadas que la respuesta pupilar acromática, (Moro et al., 2007).

La diabetes es, sin duda, uno de los trastornos con implicaciones autonómicas con mayor número de afectados. Como es sabido, es una afección crónica que se desencadena cuando el organismo pierde su capacidad de producir suficiente insulina o de utilizarla con eficacia. Dicho trastorno se ha estudiado ampliamente en sus manifestaciones pupilares. Las investigaciones reportan que un 75% de los diabéticos posee irregularidades pupilares (Bremner y Smith, 2006) y que el 40% de los sujetos con diabetes o intolerancia a la glucosa posee mayor anisocoria estática (Jacobson, 1998). Estudios con población infantil afectada de diabetes han logrado demostrar un menor diámetro basal en estos niños con respecto al grupo de niños control. De hecho, para la diabetes, se ha relacionado el diámetro pupilar de forma negativa con los años de evolución de la enfermedad (Karavanaki, Davies, Hunt, Morgan, y Baum, 1994).

Uno de los factores más influyentes en la aparición de la diabetes tipo II es la obesidad, que se estudia igualmente con las técnicas pupilométricas en poblaciones infantiles. De esta manera, se ha determinado que los diámetros basales en oscuridad y los tiempos de redilatación resultan más reducidos cuanto mayor es el índice de masa corporal, en un patrón de desarrollo similar a la neuropatía autonómica diabética (Baum, Petroff, Classen, Kiess, y Blüher, 2013).

Otros de los trastornos de interés, en especial por la posibilidad de establecer una detección precoz y diagnóstico fiable, son los trastornos generalizados del desarrollo, como puede ser los trastornos del espectro autista. En este colectivo, en edades infantiles, se han encontrado unos valores del período de latencias más largos, y unos valores de amplitud y velocidad de constricción reducidos (todos ellos valores típicamente parasimpáticos). Además, en este estudio, destacó la identificación de la variable que mejor clasificaba a los sujetos, que resultó ser la de amplitud de respuesta, obteniendo una tasa de acierto del 92,5% (Fan, Miles, Takahashi, y Yao, 2009). En este sentido, el diámetro basal tónico en niños con trastornos generalizados

del desarrollo, ha mostrado unos valores superiores a los observados con los niños control, lo que podría sugerir una función cognitiva atípica en este tipo de individuos, si se tiene en cuenta la hipótesis de la pupila como marcador de la atención (Anderson y Colombo, 2009).

Asimismo, en el caso de los niños con trastorno del espectro autista, dos actividades visuales muestran relación con su tamaño pupilar. En primer lugar, el escaneado de paisajes es más escaso en infantes autistas que en niños sin trastorno. Por otro lado, cuando se trata de una actividad en la que se exponen diversas caras de niños, que usualmente, por su interés biológico, provoca dilatación en niños del grupo control, los niños con trastorno del espectro autista sufren constricciones evidentes ante idéntica exposición (Anderson, Colombo, y Shaddy, 2006). Este hecho parece indicar que los estímulos humanos resultan más irrelevantes para este colectivo. En cualquier caso, se ha sugerido, que en niños con trastorno del espectro autista se registra una alteración funcional del sistema LC-NA que estaría relacionada con la persistencia severa en determinadas tareas, así como un alto nivel atencional de forma global (Blaser, Eglington, Carter, y Kaldy, 2014).

Más allá de las patologías sistémicas o autonómicas, los valores pupilares también se han utilizado para determinar ciertas patologías retinianas. Por ejemplo, en estudios longitudinales, mediante la pupilometría se han demostrado asociaciones entre la línea base pupilar y la presencia de retinopatía autonómica en adolescentes (Maguire et al., 2007).

En cuanto a variables dinámicas y patologías visuales en el siguiente párrafo se comentan estudios de interés, en concreto, los siguientes. Por ejemplo, ciertos trastornos como la neuropatía óptica hereditaria de Leber muestran una amplitud de reflejo pupilar reducida cuando se observa la respuesta de los enfermos a estimulación luminosa (RPL) (Bremner, Shallo–Hoffmann, Riordan–Eva, y Smith, 1999). En el caso de la neuritis óptica severa, además de una amplitud del RPL reducida, se observan latencias de respuesta más prolongadas en individuos enfermos que en individuos control (Barbur, Moro, Harlow, Lam, y Liu, 2004), o que en individuos con retinosis pigmentaria (Liu, Liu, Meng, y Yin, 2011). En cambio, en otros trastornos, como la atrofia óptica dominante, se ha observado una función pupilar mayormente preservada (Bremner, Tomlin, Shallo–Hoffmann, Votruba, y Smith, 2001), probablemente por la conservación de las vías retinotectales.

Por otro lado, y en línea con el novedoso descubrimiento de las neuronas melanopsínicas, ciertos estudios recientes utilizan la longitud de onda del estímulo

luminoso para establecer diferencias entre diversos trastornos de pérdida neuroretinal (Léon et al., 2012). Estos autores hallaron que, así como las respuestas de los enfermos de neuritis óptica no parecían diferenciarse significativamente del grupo control (con luces de 467 nm y 640 nm), los enfermos de trastornos degenerativos de la retina (fotorreceptores), mostraban reducciones de amplitud evidentes ante ambas luces y, sobre todo, mayor tiempo de redilatación en el caso de la longitud de ondas cortas. En la figura 16 se representa el tamaño pupilar relativo en función del tiempo de los tres grupos. La línea azul ancha muestra el valor medio de los pupilogramas obtenidos de individuos controles. Las líneas de círculos negros y triángulos grises representan, respectivamente, la medida media de los pupilogramas de enfermos de patología de retina externa (fotorreceptores) y neuropatía óptica. Las respuestas pupilares se muestran reducidas en estos últimos grupos con respecto al grupo control. Sin embargo, cuando termina la estimulación luminosa y comienza la recuperación, los pacientes con patología de la retina externa muestran una curva de recuperación más lenta, que tarda más en alcanzar la línea base y que no llega a los valores que consiguen los dos grupos restantes.

Este test bi-estimular ha sido sugerido como herramienta de diferenciación diagnóstica por dichos autores.

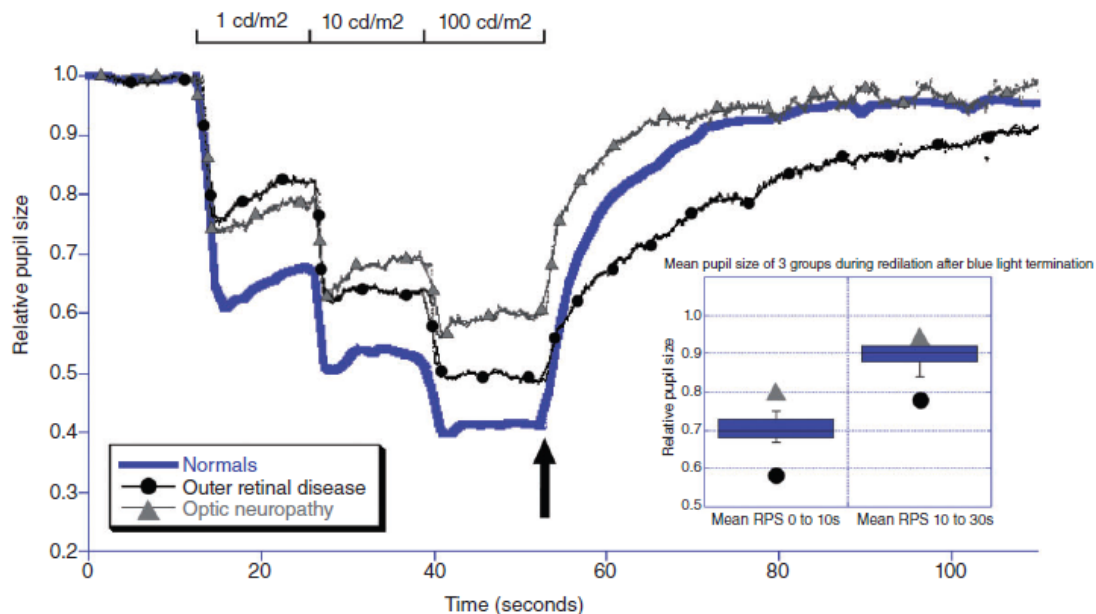


Figura. 16. Respuesta pupilar de tres grupos de sujetos a estimulación continua de longitud de onda corta presentada en tres tipos de intensidad (1, 10 y 100 cd/m^2). Tomado de Léon et al. (2012).

Por otro lado, recientemente se ha sugerido la utilización de la respuesta pupilar postiluminación (PIPR), para evaluar pacientes con disfunciones retinianas internas o alteraciones de las neuronas melanopsínicas (Kankipati et al., 2010). El PIPR neto, definido como la diferencia de valores entre el PIPR tras luz azul menos el PIPR tras luz roja, se mostraba significativamente menor en enfermos de glaucoma y su magnitud correlacionaba inversamente con la pérdida de campo visual (Kankipati, Girkin, y Gamlin, 2011). Además, se han mejorado ciertos desarrollos de la técnica de pupilometría para testear la asimetría funcional entre las regiones superiores e inferiores de la retina (Chen, Wyatt, y Swanson, 2005; Chen, Wyatt, Swanson, y Dul, 2008) con objeto de detectar daños glaucomatosos. Algunos estudios en esta línea, han obtenido una sensibilidad de 93,1% en la detección del glaucoma (Wride, Habib, Morris, Campbell, y Fraser, 2009).

Para finalizar, conviene comentar que, en el ámbito de problemáticas psicológicas, existen estudios que han explorado el RPL en diversos trastornos psicológicos. Concretamente, en sujetos diagnosticados con trastorno de ansiedad generalizada se ha registrado una amplitud de respuesta menor, sin diferencia en cuanto a valores basales con respecto a los controles, lo que sugiere un perjuicio parasimpático (Bakes, Bradshaw, y Szabadi, 1990). Por otro lado, los pacientes diagnosticados de depresión mayor han mostrado menores índices de latencia (Fountoulakis et al., 1999). En cambio, no han podido encontrarse diferencias pupilares a nivel mesópico y fotópico para niños con trastorno de déficit de atención por hiperactividad (Kara et al., 2013).

Por tanto, existe un alto número de trastornos y patologías, ya sean de tipo sistémico, retiniano o psicológico, que modifican el rango normal de las fases del RPL. Se espera que, tras la optimización de algunas técnicas y la implementación de nuevos desarrollos, se logren nuevos descubrimientos en el campo de la detección precoz de patologías y se obtengan datos que esclarezcan la situación del corpus de investigación pupilométrico actual.

3.3.7.4 La pupila en estudios farmacológicos como indicador de la función neural

Un ámbito destacable de investigación a nivel de sistema visual y pupilar es el registro de los parámetros pupilares tras ingesta y/o instilación de fármacos. Su objeto es comprobar el efecto de los fármacos sobre las variables autonómicas pupilares e inferir sus mecanismos de actuación. Así, se ha logrado demostrar, por ejemplo, que

en la diabetes mellitus el déficit simpático aparece en primer lugar al déficit parasimpático (Kwon y Kim, 2009). En este estudio se aplicó monocularmente pilocarpina y apraclonidina, compuestos que provocaban valores pupilares basales mayores en el ojo de prueba que en el ojo control. Estos datos correlacionaban con la neuropatía autonómica cardiovascular y además, el grado de midriasis del ojo intervenido correlacionaba con el grado de severidad de la retinopatía diabética. Sin embargo, otras investigaciones no concuerdan con estos hallazgos pues, utilizando únicamente pilocarpina, se observa una hipersensibilidad por denervación del aporte parasimpático, antes de degradarse la rama simpática en el trastorno de la diabetes mellitus (Cahill, Eustace, y de Jesus, 2001). Como se puede comprobar, existe una gran controversia, sin resolver en la actualidad, con relación a la participación del sistema simpático y parasimpático en la diabetes en momentos iniciales de la enfermedad.

Con respecto a las enfermedades disautonómicas, la utilización de agentes parasimpaticomiméticos y simpaticomiméticos, ha permitido determinar que las personas que sufren atrofia multisistema tienen disfunción pupilar simpática desde un estadio temprano, mientras que los pacientes de Parkinson sufren dicho déficit de forma más gradual en el tiempo (Yamashita et al., 2010). Si bien este estudio ha informado acerca de la forma de progresión de la enfermedad de Parkinson, otros estudios han desestimado esta metodología y ponen en entredicho la utilidad del test de la tropicamida como herramienta diagnóstica de la demencia en esta misma enfermedad (Inzelberge, Feiler, y Korzcyn, 1997). No obstante, el test de la tropicamida ha sido largamente estudiado en los años 90 ya que parecía una herramienta prometedora de screening para ciertas demencias como la EA. Por ejemplo, ciertos autores, tratando de comparar las respuestas pupilares de enfermos de EA, enfermos de Parkinson y controles, detectaron que el test de la tropicamida no era sensible en ninguno de los casos, pero sugirieron que el RPL podría señalar la disfunción colinérgica asociada al progreso de la enfermedad y a la evolución de la misma asociada al tratamiento aplicado (Granholm et al., 2003). Los nuevos hallazgos anatómicos acerca de los núcleos EW indican que estos intentos pueden ser baldíos, pues la población de neuronas que degenera en los núcleos EW son aquellas que se proyectan al SNC y no las neuronas colinérgicas implicadas en el reflejo pupilar a la luz (Kozicz et al., 2011).

Sin embargo, es de reseñar que la aplicación de métodos farmacológicos en pupilometría tiene serios inconvenientes metodológicos pues la medida depende de la

estabilidad de las soluciones, o de la permeabilidad de la córnea. Por ello, las conclusiones de estos estudios han de utilizarse con precaución (Bremner, 2009).

En estas líneas se ha destacado el valor del reflejo pupilar a la luz como servomecanismo que regula la incidencia de luz en la retina, y se ha ampliado la función pupilar a aspectos más desconocidos o novedosos igualmente importantes para esta tesis. A continuación se profundizará en apartados sobre los factores influyentes en la respuesta pupilar más importantes para este trabajo: condiciones de iluminación, edad y consumo de alcohol.

3.4 CONDICIONES DE ILUMINACIÓN COMO FACTOR DE CAMBIO EN EL SISTEMA VISUAL

3.4.1 Conceptos básicos: luz y sus tipos

En la presente tesis doctoral, la luz tiene un doble papel. En primer lugar, se plantea utilizar estimulación luminosa que afecte al reflejo pupilar; este tipo de radiación se entiende como luz puntual. En segundo lugar, el proceso de evaluación de los diámetros pupilares en reposo se hace en condiciones de iluminación mesópicas, por lo que éstas mismas determinarán el diámetro pupilar basal. Por todo ello, a continuación se presentan de forma breve los conceptos básicos relacionados con la luz, para, en posteriores subapartados, adentrarse en el análisis de las condiciones de iluminación ambiente y en la visión en condiciones mesópicas, que son aquellas en las que se desarrollan los experimentos descritos en esta tesis.

Como es sabido, la luz es el rango de longitudes de onda del espectro electromagnético que el ojo humano es capaz de percibir. No hay límites exactos en el espectro visible; aunque el intervalo correspondiente a la luz de un ojo patrón humano se define generalmente como el rango comprendido entre las longitudes de onda que van desde 380 nm hasta 780 nm. Sin embargo, un ojo adaptado a la oscuridad puede ver en un intervalo mayor, que abarca desde 360 nm a 830 nm (Artigas, Capilla, Felipe, y Pujol, 1995).

La luz posee energía que, a su vez, depende de la intensidad y de la longitud de onda. La radiometría es, precisamente, la ciencia que se encarga de cuantificar la radiación energética por medio de magnitudes radiométricas. La energía que se refleja o se transmite hacia el sistema visual al interactuar con el sistema ocular, puede producir la respuesta de los fotorreceptores, proporcionando al ser humano el inicio del proceso visual. Este fenómeno requiere la utilización del sistema visual humano como

detector, consecuentemente, si lo que se desea cuantificar es tan sólo la radiación a la que es sensible el ojo humano, las magnitudes radiométricas se transforman en magnitudes fotométricas, siendo la fotometría una parte de la radiometría, especializada en el efecto que la radiación visible causa sobre el sistema visual humano (Schreuder, 2008).

Al igual que en cualquier otra disciplina, para la medida de una magnitud, ya sea fotométrica ó radiométrica, es necesario disponer de un patrón, y se estableció la candela como unidad de intensidad luminosa, considerando como emisor de referencia la luminancia de un cuerpo negro que emite a la temperatura del punto de solidificación del platino, a una presión normal, calculando su radiancia espectral a partir de la Ley de Planck.

Se considera energía radiante a la energía radiada o recibida en forma de ondas electromagnéticas o fotones y su unidad de medida es el Julio (j). El flujo radiante es la energía emitida, transferida ó recibida, en un intervalo de tiempo, dividido por el valor de ese intervalo y se mide en vatios (w). La intensidad radiante, cuya unidad es el vatio por estereorradián (w/sr), es la potencia de la energía radiada por unidad de ángulo sólido. La figura 17 representa el esquema geométrico para la intensidad radiante (w/sr).

En lo que respecta a la cantidad de radiación emitida por una superficie, su magnitud fundamental es la radiancia (w/sr m^2). Ésta se refiere a la cantidad de radiación que es emitida desde una superficie por ángulo sólido dado en una dirección específica. Por último, en lo que respecta a la cantidad de radiación incidente, la magnitud irradiancia es el flujo radiante que incide sobre una superficie por unidad de área (w/m^2).

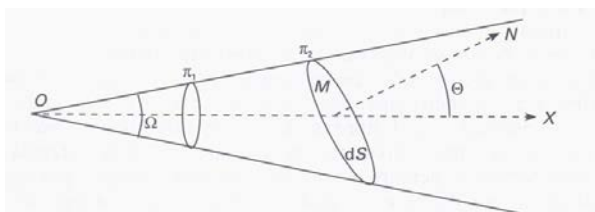


Figura 17. Esquema geométrico para la descripción del concepto de intensidad radiante.

Tomado de Artigas (1995).

Por otro lado, desde el estudio de la fotometría, se pueden enunciar cuatro magnitudes fotométricas útiles para la presente tesis. El flujo luminoso es la medida de la potencia percibida de luz y permite valorar la variación de sensibilidad del ojo humano a las distintas longitudes de onda; su unidad es el lumen. La intensidad

luminosa es la cantidad de flujo luminoso que emite una fuente por unidad de ángulo sólido; su unidad de medida es la candela.

Por otro lado, la luminancia, en lo que se refiere a fuentes extensas, corresponde a la densidad angular y superficial del flujo luminoso que incide, atraviesa, o emerge de una superficie siguiendo una dirección determinada; su unidad es la candela por metro cuadrado. Por último, la iluminancia se caracteriza como la cantidad de flujo luminoso procedente de una fuente de luz que incide sobre una superficie y emerge de ésta por unidad de área; la unidad de medida es el lux que equivale a lumen/m².

La figura 18 representa el esquema geométrico para una magnitud de tipo fotométrico, la luminancia (cd/m²).

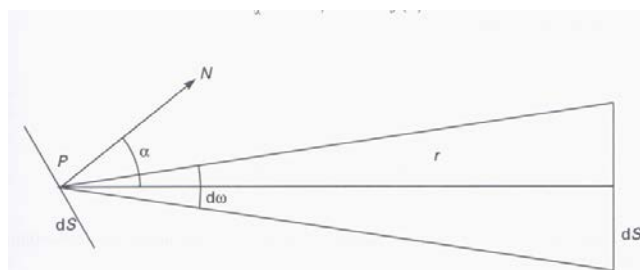


Figura 18. Esquema geométrico descriptivo del concepto de luminancia. Tomado de Artigas (1995).

A modo de ejemplo, y para una mejor comprensión del concepto de luminancia, en la siguiente tabla (tabla 1) modificada del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo del Gobierno de España (INSHT), se presentan las correspondencias de los valores de luminancia emitidos por diferentes fuentes.

Tabla 1. Valores aproximados de luminancias. Tomado de sitio web INSHT.

FUENTE	cd/cm ²
Sol	150000
Cielo despejado	0,3 a 0,5
Lámpara fluorescente 40w/20	0,8
Llama de una vela	0,8

Además, en la figura 19 se presenta un esquema que ejemplifica la luminancia directa e indirecta de un objeto dado.

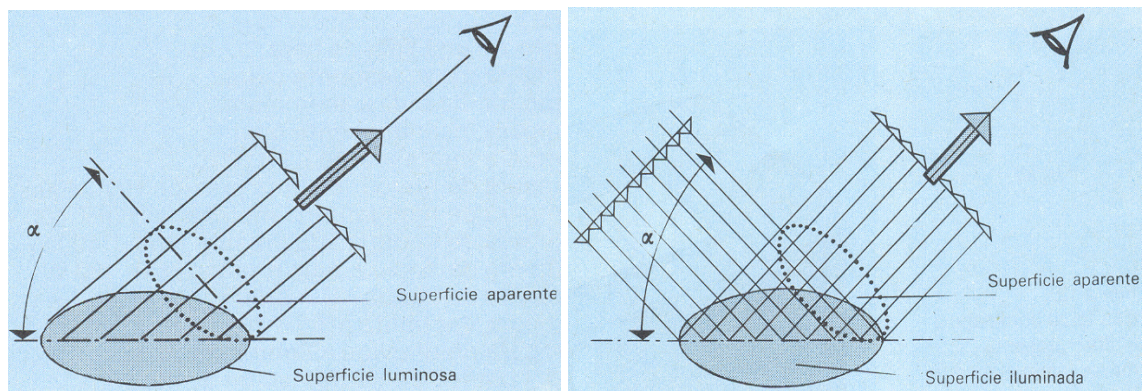


Figura 19. Luminancia directa e indirecta de una superficie luminosa. Tomado de-
<http://editorial.cda.ulpgc.es>

El resumen de todas las medidas, radiométricas y fotométricas se muestra en la siguiente tabla (tabla 2) e indica la correspondencia existente entre unidades de distinto tipo y su símbolo:

Tabla 2. Unidades radiométricas y fotométricas

Radiometría			Fotometría	
Magnitud		Unidad	Magnitud	Unidad
	Flujo radiante	vatio (w)	Flujo luminoso	Lumen (lm)
Fuente puntual	Intensidad radiante	$w \text{ sr}^{-1}$	Intensidad luminosa	Candela(cd)
Fuente extensa	Exitancia radiante	$w \text{ m}^{-2}$	Exitancia luminosa	Lumen m^{-2}
	Radiancia	$w \text{ sr}^{-1} \text{ m}^{-2}$	Luminancia	cd m^{-2}
Superficie receptora	Irradiancia	$w \text{ m}^{-2}$	Iluminancia	Lux

3.4.2 Condiciones ambientales de iluminación y su relación con el sistema visual humano

Para la mejor comprensión de este documento, se realiza un breve resumen de los niveles de iluminación ambiente a los que puede estar expuesto un ser humano.

El sistema visual es capaz de operar sobre un rango de 12 unidades logarítmicas. Se identifican funcionalmente tres intervalos de valores de iluminación ambiente donde la visión humana tiene un comportamiento distinto. Las características más destacables se exponen a continuación:

- i) **Iluminación ambiente escotópica:** Se trata de un nivel de iluminación que se ha ubicado por debajo de los 0,01-0,05 luxes, donde dichas condiciones favorecen únicamente la actividad de los fotorreceptores bastones (Colvard, 2003). Respecto a las características de la visión que induce este nivel de iluminación destacan la inexistencia de la discriminación del color y la pobre discriminación de detalles, todo ello debido a que los bastones son los únicos responsables de la percepción visual en este nivel de iluminación. Según las últimas propuestas, la iluminación ambiente escotópica presenta un rango de luminancia con un intervalo inferior a $5 \times 10^{-3} \text{ cd/m}^2$ (CIE, 2010).
- ii) **Iluminación ambiente mesópica:** Este nivel de iluminación comprende un rango de luminancia que abarca 4 unidades logarítmicas. Se trata de unas condiciones de iluminación muy controvertidas. Tanto es así, que, clásicamente, las condiciones mesópicas se asociaban por los investigadores a condiciones de oscuridad media y las condiciones escotópicas, a oscuridad superior (Colvard, 2003). Quizás es por ello que el límite inferior y superior de la iluminación ambiente mesópica suelen ser ligeramente diferentes según los autores. Así pues, para Wyszecki (Wyszecki y Stiles, 2000) y Walkey (Walkey, Harlow, y Barbur, 2006) el límite superior de este nivel de iluminación está en 10 cd/m^2 mientras otros autores consideran que el límite superior es de 5 cd/m^2 (Viikari, Ekrias, Eloholma, y Halonen, 2008). Actualmente la Comisión Internacional de iluminación (CIE) establece el intervalo de iluminación mesópica entre los valores de $0,005 \text{ cd/m}^2$ a 5 cd/m^2 (CIE, 2010). La visión humana en ambiente mesópico presenta una serie de particularidades como son una percepción del color disminuida, una reducida discriminación de los detalles y un desplazamiento de la eficiencia luminosa hacia longitudes de onda media. En este particular ambiente de iluminación están implicados en la percepción visual tanto los fotorreceptores conos como los bastones con distinto grado de implicación en función del nivel de iluminación mesópico analizado.
- iii) **Iluminación ambiente fotópico.** En la actualidad y según la CIE se considera que este intervalo de iluminación es superior a 5 cd/m^2 (CIE,

2010). La percepción visual en este nivel de iluminación se caracteriza por una correcta discriminación en la visión del color, existiendo además una buena discriminación de detalles, debido a la participación en exclusiva de los fotorreceptores conos.

Desde un punto de vista práctico, la fotometría como rama de la radiometría está basada en la descripción de las curvas de eficiencia luminosa escotópica, mesópica y fotópica, obtenidas a partir de experimentos fisiológicos relacionando las características espectrales del estímulo luminoso con la percepción visual. Estos estudios han servido para establecer el observador estándar CIE para la visión fotópica (CIE, 1924), el observador estándar CIE para la visión escotópica (CIE, 1951), y el observador estándar CIE para la visión mesópica en 2010 (CIE, 2010). En la figura 20 (Sagawa y Takeichi, 1992) se pueden apreciar funciones de eficiencia luminosa espectral correspondientes a los tres niveles.

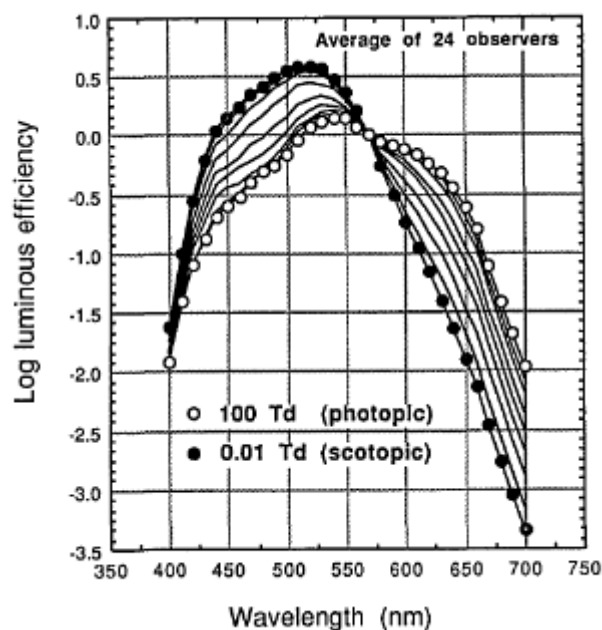


Figura 20. Función de eficiencia luminosa espectral en nueve niveles de iluminancia retiniana desde 100 a 0,01 trolands (Td) en pasos de 0,5 unidades logarítmicas. Se reflejan los valores referentes a niveles fotópicos (100 trolands), escotópicos (0,01 trolands) y los niveles intermedios donde se incluye el nivel mesópico. Tomado de Sagawa y Takeichi (1992).

A modo de resumen de este apartado se quiere utilizar la figura 21 (Aivar Rodríguez, Gómez Sena, Maiche Marini, Moreno Alcázar, y Travieso García, 2010) donde se marcan los tres niveles de iluminación y las características visuales más importantes de cada uno de ellos.

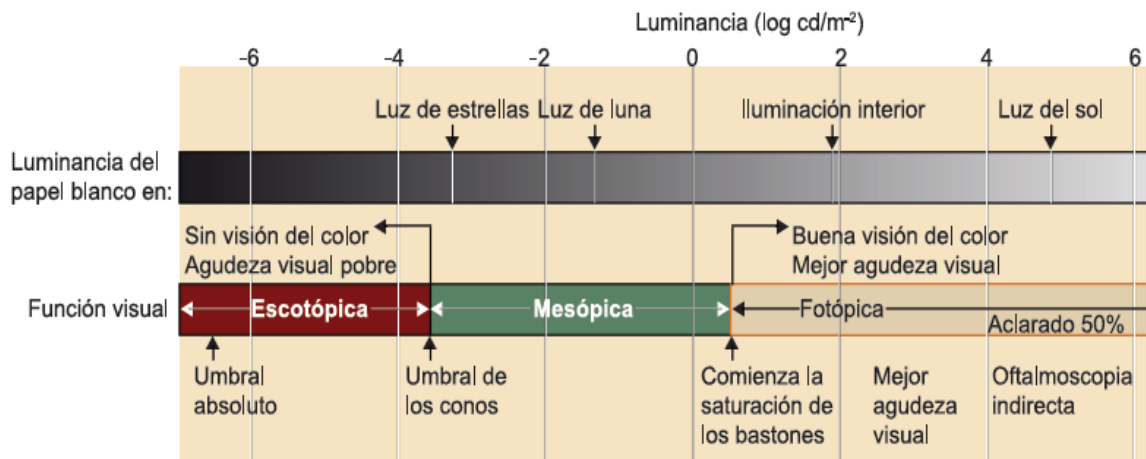


Figura 21. Rangos de iluminación ambiente y tipo de visión que proporciona a un observador patrón. Tomado de Aivar Rodríguez (2010).

3.5 LA EDAD COMO FACTOR DE CAMBIO EN EL SISTEMA VISUAL

3.5.1 Efecto de la edad sobre el sistema visual

El sistema visual sufre una gran cantidad de alteraciones en la transmisión óptica y en los mecanismos perceptuales en el proceso de envejecimiento (Andersen, 2012), aunque debe reconocerse que existen ciertas funciones que se mantienen relativamente estables, como son, por ejemplo, la hiperagudeza o agudeza Vernier y las constancias perceptuales relacionadas con la visión del color (Enoch, Werner, Haegerstrom-Portnoy, Lakshminarayanan, y Rynders, 1999).

En primer lugar, los cambios más directamente observables son los de tipo anatómico, que se producen en el sistema visual y que afectan a su función. Un ejemplo de cambio anatómico es la opacidad de medios que se manifiesta en las cataratas del cristalino y que supone un cambio muy discapacitante, que impide la incidencia plena de la luz sobre la retina (por dispersión de la luz) y que dificulta la correcta ejecución de actividades de la vida cotidiana (Kaur et al., 2012; Petrash, 2013; Prokofyeva et al., 2013).

Otro cambio anatómico destacado es la reducción de hasta el 30% de la población de bastones en la retina paracentral humana con la edad, mientras que el número de conos permanece estable (Curcio, Millican, Allen, y Kalina, 1993). De hecho, dos bastones por mm² se pierden al día de media. En este sentido, el mayor descubrimiento de estos investigadores es que la densidad espacial de los bastones decrece cerca del 30% en los 28,5° de visión central durante el período de 34 a 90

años en personas sanas. Esta pérdida comienza en la parte inferior de la fovea entre los 45 y los 61 años y, en la novena década es mayor el detrimento observado en el anillo parafoveal desde 0,5 a 3 mm de excentricidad. En este sentido, con la edad, parece verse más afectada la vía magnocelular que la parvocelular, al menos, en la retina.

Un cambio anatómico concreto asociado a la edad y que se refiere a la pupila y a la posición del arco del iris, es el que se produce en el cristalino al desplazarse gradualmente hacia adelante, empujando al diafragma del iris hacia la porción anterior del globo, causando así, mayor cercanía entre iris y cristalino (Cheung et al., 2010), con posibles consecuencias en cuanto a la variación de la presión intraocular. Entre los cambios anatómicos del sistema visual más evidentes, son los que se han observado en el núcleo geniculado lateral. En concreto, se ha detectado en el NGL una reducción de volumen significativa con la edad (Li et al., 2012; Selemon y Begovic, 2007), aunque debe señalarse que no disminuye el número de neuronas en su interior (Selemon y Begovic, 2007).

En general, los estudios muestran que la edad no altera demasiado la estructura de las proyecciones corticales desde las estaciones de relevo (NGL, EW), sin embargo, se advierte que los axones de las células ganglionares retinianas que constituyen el fascículo óptico resultan más vulnerables con el paso del tiempo. En concreto, en todos los mamíferos se ha observado una pérdida del 40% de los axones de neuronas ganglionares con el envejecimiento (Neufeld y Gachie, 2003). Recientes estudios realizados con tomografía de coherencia óptica en humanos confirman esta tendencia en la reducción del espesor del nervio óptico en función de la edad (Harwerth, Wheat, y Rangaswamy, 2008). La menor conexión entre neuronas puede favorecer consecuencias que provoquen cambios en el procesamiento perceptual, como se expondrá en apartados posteriores.

Existen, en segundo lugar, cambios a nivel óptico con el avance del ciclo vital que, aunque de manera discreta, influyen en la función visual. Por ejemplo, las aberraciones tipo coma correlacionan con la edad, mientras que las aberraciones esféricas no varían con ésta (Oshika, Klyce, Applegate, y Howland, 1999). Mayor sensibilidad al deslumbramiento y cambios en la dispersión de la luz son otras de las manifestaciones que afectan al individuo de mayor edad en cuanto a la transmisión de la luz en el globo ocular (Gruber, Mosimann, Muri, y Nef, 2012; Nischler et al., 2010).

Además de las modificaciones anatómicas y ópticas, los cambios que se producen en el procesamiento sensorial son variados. Entre ellos, el más destacado

es la reducida sensibilidad a la luminancia, particularmente en visión escotópica (Richards, 1977). La sensibilidad a bajas frecuencias espaciales se mantiene con la edad pero la sensibilidad a medias y altas frecuencias se reduce con ésta (Sekuler, Owsley, y Hutman, 1982). También la edad da lugar a un aumento continuo de los umbrales de percepción de movimiento tanto mayor cuanto más avanzada sea la edad, que limita la reacción de forma progresiva y concreta (Trick y Silverman, 1991).

Con respecto al procesamiento perceptual, se han observado declives en la integración espacial (Billino, Bremmer, y Gegenfurtner, 2008; Roudaia, Bennett, y Sekuler, 2008). Estos trabajos refuerzan antiguas investigaciones que concluían que las personas mayores sufren un deterioro general en el uso de la información de flujo óptico (Atchley y Andersen, 1998). Este hecho sugiere que las personas mayores tienen dificultad en recuperar información crítica cuando el observador se está moviendo (Andersen, 2012). En este sentido, cabe destacar que los cambios en la percepción visual son el factor que más contribuye en la incidencia de caídas en las personas de mayor edad y que se evidencian con el incremento de accidentes para conductores de vehículos en ese rango de edad (Andersen, Cisneros, Atchley, y Saidpour, 1999; Andersen y Enriquez, 2006; Langford y Koppel, 2006).

Los motivos de los cambios en la función visual no se deben a cambios en el nivel sensorial o en el nivel cerebral. Estudios esenciales en este sentido, muestran que las reducciones del volumen de materia blanca aparecen a nivel del lóbulo prefrontal y del hipocampo pero no existen cambios de volumen significativos a nivel de córtex visual (Raz et al., 2004). Por tanto, estos hallazgos parecen descartar que las modificaciones de la percepción visual sean cambios debidos principalmente a un procesamiento general ralentizado. En cualquier caso, el sistema visual tiene un alto grado de plasticidad que permite la posibilidad de mejorar la función perceptual en buena medida bajo entrenamiento adecuado y, con ella, la salud y el bienestar de la población más mayor (Andersen, 2012).

En definitiva, como es sabido, el deterioro del sistema visual representa un aspecto debilitante y costoso de la senescencia. Esta pérdida es impactante pues en la vida cotidiana existen muchas tareas vitales que dependen de la visión.

3.5.2 Biomarcadores en el estudio de la salud y el envejecimiento

Es evidente que los seres humanos sufren cambios biológicos en su propio cuerpo a lo largo de la vida, pero existe una variabilidad igualmente clara en las diferentes manifestaciones de este fenómeno. Es, por tanto, un reto identificar los

factores que determinan que algunas personas envejezcan con un patrón determinado. Igualmente, existen numerosos estudios que analizan el porqué de la variabilidad en este proceso.

Precisamente por ello, es necesaria la evaluación de los biomarcadores que son indicadores objetivos de procesos biológicos en el ciclo de vida y que se han hecho progresivamente más frecuentes en la literatura del estudio del envejecimiento. Un biomarcador se define como “un indicador biológico que refleja procesos fisiológicos subyacentes, incluyendo procedimientos normativos y estados patogénicos” (Piazza, Almeida, Dmitrieva, y Klein, 2010). Precisamente, se podrían utilizar como biomarcadores de la edad cronológica ciertos parámetros observados en los déficits destacados en líneas anteriores en cuanto a procesamiento óptico, sensorial y perceptual de la imagen.

En este sentido, ciertas investigaciones han propuesto el estudio del diámetro pupilar basal, sin estimulación previa o posterior de luz, como un marcador útil para conocer la edad cronológica (Ludwig y Smoke, 1980). La pupilometría es, además de una medida precisa, una metodología simple y no invasiva.

Históricamente, ha habido controversia respecto al nivel de iluminación ambiente más adecuado para que las pruebas pupilométricas resulten más eficaces y sensibles como biomarcador. Por un lado, se ha sugerido que las medidas de la pupila en ambientes de bajas luminancias (mesópicos/escotópicos) son preferibles como marcador biológico de la edad porque su tasa de cambios es mayor en esas condiciones y en consecuencia resulta más fácil apreciar aquellos individuos cuyas respuestas sean muy discordantes con la media y la dispersión de la población (Sekuler y Owsley, 1983).

Por otro lado, según otros autores, la utilidad del marcador biológico es también inversamente dependiente de la variabilidad de la medida dentro de un grupo específico de edad (Ludwig y Smoke, 1980; Robert Sekuler y Owsley, 1983). Desde este punto de vista, y dado que las medidas en condiciones fotópicas altas poseen una dispersión reducida en el grupo de personas mayores, son precisamente las condiciones fotópicas altas las indicadas por estas investigaciones como potencial marcador en los estudios de la edad cronológica (Winn et al., 1994).

No sólo pueden utilizarse como biomarcador de la edad cronológica las variables pupilares estáticas. Ya desde la década de los 70 se encuentran estudios donde se utilizan las fases del reflejo pupilar a la luz en función de la edad como valores exploratorios; en concreto, se valoraron los diámetros mesópicos, escotópicos y de

acomodación, que se comprobó, variaban con la edad (Bitsios, Prettyman, et al., 1996; Schäfer y Weale, 1970; Winn et al., 1994). Hasta la actualidad, las investigaciones han demostrado que, salvo las respuestas de latencia, todas las variables del RPL se ven afectadas por la edad (Bitsios, Prettyman, et al., 1996), proponiendo como posible explicación, que la causa de la ralentización del RPL sea un déficit en la rama simpática. Posteriores estudios recientes han confirmado estos resultados (Fotiou et al., 2007), aunque en esta tesis doctoral se han obtenido resultados acordes y discordantes con unos y otros estudios según la fase del RPL analizado.

En cualquier caso, los hallazgos sobre el tamaño pupilar y sobre cualquier parámetro del RPL como marcador biológico de la edad continúan mostrando resultados contrapuestos. Además, la dificultad de reclutar muestras específicas amplias y la continua variabilidad existente en las técnicas de pupilometría dinámica por infrarrojos, explican que el campo de la investigación pupilométrica de marcadores biológicos de la edad cronológica todavía suponga un amplio banco de pruebas.

3.6 INGESTA DE ALCOHOL COMO FACTOR DE CAMBIOS EN EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA VISUAL

3.6.1 Conceptos básicos

El etanol, la molécula activa de las bebidas alcohólicas es, sin ninguna duda, la droga de abuso más consumida en el mundo junto con la nicotina. En adultos sanos e incluso en la vejez, se admite que el consumo espontáneo de bebidas alcohólicas (30 gramos de etanol/día para hombres y 15 gramos/día para mujeres) es una medida aceptable que no requiere intervención por parte de los servicios sanitarios (Poli et al., 2013).

No obstante, la ingesta aguda de alcohol produce múltiples efectos neurológicos, entre ellos, el más importante es la intoxicación alcohólica aguda. Los signos y síntomas de esta intoxicación son ampliamente conocidos e incluyen descoordinación, ansiolisis, cambios cognitivos, y modulación de la actividad locomotora. Correlacionan estos positivamente con las concentraciones de alcohol alcanzadas en sangre, que, a su vez, tienden a relacionarse con los niveles de etanol en el cerebro.

3.6.2 Epidemiología de la ingesta de alcohol

El alcohol, junto con la nicotina y cafeína son denominadas en la *Convención de Naciones Unidas sobre sustancias psicoactivas* como drogas capaces de un uso

recreativo. El uso recreativo de las drogas es el uso de la droga con la intención de crear o mejorar la experiencia recreativa. En efecto, en contextos recreativos, se produce un uso excesivo de alcohol y drogas principalmente por parte de grupos de jóvenes, de carácter prosocial o desviado, en términos de conflictividad (Calafat et al., 2010). Esta apreciación es oportuna debido a que, en el segundo experimento de esta tesis doctoral, se analizan los cambios del diámetro pupilar basal en un colectivo de jóvenes entre 21 a 45 años con ingesta acumulativa de alcohol. En el diseño del experimento, se quisieron simular las condiciones del proceso de toma de alcohol durante 5 horas, lo que podía emular una situación recreativa.

Por otro lado, en buena medida debido a su disponibilidad y a su estatus legal, el alcohol causa graves problemas tanto por su consumo, como por su dependencia y adicción, provocando problemas de salud devastadores y numerosas muertes prematuras. De hecho, cada año, el alcohol causa 2,5 millones de muertes (Organización Mundial de la Salud, 2010). Además, sus efectos se hacen notar más allá de la salud global del bebedor, pues, por ejemplo, la conducción bajo los efectos del alcohol o los actos de violencia derivados de su consumo, perjudican seriamente a terceros.

A continuación, se exponen algunos datos de interés de la variabilidad de consumo y de los efectos del alcohol en diversas demografías. Si se refiere a Europa y áreas colindantes: en la región este y sureste del Mediterráneo, incluyendo los países islámicos se registran tasas de abstinencia del 90% o más; en cambio, la Europa continental y oceánica sufre un mayor impacto del alcohol con cerca del 6,5% de muertes (hombres: 11,0% y mujeres: 0,8%). Además, los años de vida potencialmente perdidos (disability-adjusted life years DALYs) suponen un 11,6% en Europa (17,3% en varones y 4,4% en mujeres) (Rehm et al., 2009).

A nivel internacional, aunque la exposición mundial al alcohol es de 6,2 l de alcohol puro (definido como 100% de etanol puro) por adulto y por año, Europa y América registran un consumo global más alto, mientras que África y el este del Mediterráneo muestran un consumo menor, en cuanto a alcohol consumido registrado de manera oficial (Rehm et al., 2009). Como dato clarificador, se puede comentar que el producto interior bruto (PIB) influye en la ingesta de alcohol, de tal forma que, teniendo en consideración poblaciones donde el PIB es inferior a \$10000, al ascender el PIB, se incrementa el consumo de alcohol. El punto de inflexión es precisamente esta cuantía anual, y, a partir de este umbral, la relación PIB/ingesta de alcohol se reduce de manera considerable.

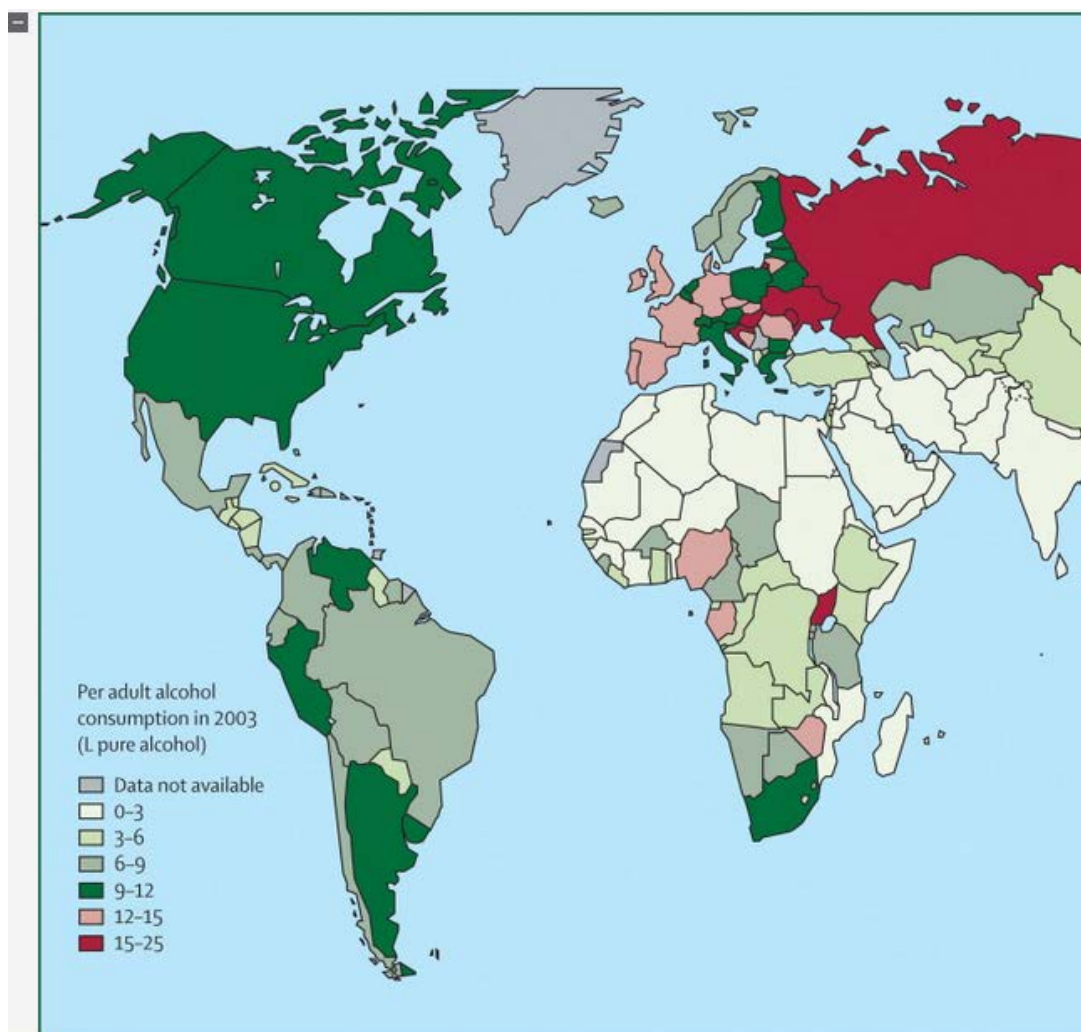


Figura 22. Representación gráfica del mapamundi donde se muestran los litros puros de alcohol consumidos en parte del globo terráqueo. Tomado de Rehm et al. (2009).

Analizando los datos respecto al consumo de alcohol, cabe destacar que a nivel internacional, se produce una mayor incidencia de trastornos en hombres que en mujeres debido a la extrema diferencia en su consumo. Respecto a regiones mundiales, dichos trastornos se registran con mayor intensidad en el continente americano y en el sudeste asiático. De hecho, el consumo global de alcohol en China e India está aumentando y esto probablemente se reflejará en el aumento de la carga global creciente de enfermedades producidas por el alcohol (Rehm et al., 2009). En este sentido, es de interés aclarar que, además del coste económico sanitario “per se”, en los países de rentas altas y medias, se añade el coste económico social para atender y educar a la población, en forma de programas para corregir y paliar los

daños producidos por el uso y abuso de alcohol, que supone más del 1% del PIB de estos países.

El daño resultante en la salud sistémica por consumo de alcohol es muy elevado, siendo necesarias medidas preventivas de concienciación en su consumo para reducir la incidencia de daño. Estudios recientes recomiendan que una de las medidas preventivas de mayor utilidad es la reducción de la cantidad de ingesta de alcohol hasta 10 gramos/día, ya que con este límite se conseguiría reducir de forma drástica los trastornos que la ingesta excesiva de alcohol produce en población adulta (Rehm, Zatonksi, Taylor, y Anderson, 2011). Para conseguir un efecto inmediato en la reducción de buena parte del daño debido al alcohol, los autores recomiendan intervenciones profilácticas urgentes dirigidas a personas adultas de mediana edad.

3.6.3 Cambios fisiológicos por ingesta de alcohol

A continuación, se destacarán los cambios que se han encontrado en la literatura científica tras una ingesta puntual de alcohol, con especial interés sobre las intoxicaciones agudas de alcohol. Los cambios se dividen en tres aspectos: a nivel molecular, a nivel cerebral y, por último, a nivel visual y cognitivo.

3.6.3.1 Nivel molecular

El etanol tiene efectos en numerosas dianas moleculares y celulares y, entre ellos, se observan alteraciones importantes de la función sináptica. Normalmente, una ingesta aguda de alcohol activa o inhibe la función de las proteínas involucradas en la transmisión sináptica, mientras que la ingesta crónica produce a menudo efectos opuestos o de naturaleza compensatoria en la expresión, localización y función de estas proteínas (Lovinger y Roberto, 2013). Además, el alcohol tiene un efecto sobre el funcionamiento de los neurotransmisores y neuromoduladores que se describen a continuación.

El sistema GABAérgico juega un rol importante modulando los efectos del alcohol, especialmente en sus características hipnóticas, amnésicas, motoras y ansiolíticas. De hecho, el neurotransmisor GABA media la mayoría de las inhibiciones sinápticas rápidas del cerebro, específicamente a través de los receptores GABA_A. El canal de iones intrínseco contenido en la proteína receptora GABA_A es permeable al Cl⁻ y a otros aniones. La activación del receptor puede hiperpolarizar las neuronas a través de un flujo de cargas negativas a potenciales de membrana por debajo del

umbral de generación del potencial de acción. Esta inhibición generalmente contrarresta otras influencias sinápticas excitadoras, despolarizadoras, como la del glutamato. El GABA puede también actuar a través de los receptores acoplados a proteína G, que son los receptores GABA_B (Kandel et al., 2000). Existen muchos subtipos de GABA_A, formados por diversas subunidades que poseen una secuencia de aminoácidos diferente. Los fármacos que se unen al receptor GABA_A han sido muy utilizados en casos de trastornos de ansiedad e incluso en casos de epilepsia (Möhler, 2006). La mayoría de los anestésicos generales actuales producen sus efectos mayoritariamente a través de la intensificación de la función de los receptores GABA_A (Hemmings et al., 2005). Casi todos estos fármacos, o bien directamente intensifican los receptores GABA_A, o activan el sitio de unión de las benzodiazepinas en el mismo receptor para producir una respuesta alostérica. Este tipo de respuesta no es de todo o nada, sino que es parcial y dependiente no sólo del neurotransmisor principal, sino también de la presencia de otras sustancias que contribuyen al grado de ejecución de la respuesta.

La ingesta aguda de alcohol puede producir respuesta alostérica de la función de los receptores GABA_A, incluso en dosis muy bajas (Lovinger y Homanics, 2007). La ingesta aguda de etanol también provoca la liberación del neurotransmisor GABA en muchas sinapsis cerebrales (Siggins, Roberto, y Nie, 2005). En efecto, la potenciación de la transmisión GABAérgica en la sinapsis parece contribuir a un buen número de aspectos relacionados con la intoxicación aguda de alcohol, incluyendo la falta de coordinación motora, la reducción de los efectos de la ansiedad, y la sedación (Lovinger y Homanics, 2007; Siggins et al., 2005). Cambios en el mismo sentido, e igualmente marcados se presentan con la ingesta crónica de alcohol, como respuesta y adaptación a las acciones producidas por la repetida ingesta aguda de alcohol (Lovinger, 2008).

Con respecto al glutamato, la ingesta puntual de alcohol puede tener efectos importantes. El glutamato es el neurotransmisor más excitatorio del cerebro mamífero. A nivel molecular, los receptores NMDA, receptores ionotrópicos del glutamato conocidos también como N-metil-D-aspartato, son una de las moléculas target más importantes para el etanol inhibiéndose con la acción de este elemento (Woodward, 2000). Asimismo, los receptores no-NMDA (AMPA y kainato), aunque no tan sensibles, se han mostrado inhibidos como resultado de la acción del etanol (Möykkynen y Korpi, 2012).

En general, el consumo agudo de etanol inhibe la transmisión sináptica glutamatérgica (Siggins et al., 2005). De esta manera, el alcohol también inhibe la

plasticidad sináptica que se requiere para la activación del receptor NMDA y este mecanismo de acción también podría contribuir al efecto destructor de recuerdos por parte del alcohol (Lovinger, 2008). Además, la inhibición de los receptores kainato puede contribuir a los efectos ansiolíticos que produce el alcohol, así como la inhibición de los receptores AMPA contribuye a la aparición de trastornos del espectro alcohólico fetal (Möykkynen y Korpi, 2012). Al estar los receptores glutamatérgicos muy involucrados en el funcionamiento de las vías de la recompensa, se esperan futuras investigaciones que aclaren la acción del etanol sobre estos receptores, para poder explicar así la generación de cuadros de adicción al alcohol.

En el caso de la dopamina, ésta ejerce un papel muy preponderante en la regulación cerebral, lo que contrasta con el reducido grupo de células cerebrales (área tegmental ventral del cerebro medio) que la liberan. La dopamina actúa, a su vez, sobre un número reducido de núcleos (Lovinger, 2008). Se trata de un neuromodulador, pues activa exclusivamente los receptores asociados a proteína G, un transductor de señal que lleva la información desde el receptor hasta una o más proteínas efectoras. Esta proteína puede unirse con cinco subtipos de receptores divididos en dos grupos: el primer grupo aumenta los canales de sodio en neuronas del núcleo estriado, mientras que el segundo grupo inhibe este tipo de canales (Surmeier, Ding, Day, Wang, y Shen, 2007). Entre las neuronas aferentes del estriado hay un grupo numeroso que proyecta a la sustancia negra en una vía directa que tiende a activar el córtex. Existe otro grupo de neuronas en el estriado que conecta con el globo pálido y que forman la vía indirecta que atenúa el output cortical. De la coordinación de estas dos vías deviene la capacidad de iniciar acciones y controlar secuencias de acción, actividades, por tanto, moduladas por la dopamina.

Es por ello que el consumo agudo de alcohol incrementa la actividad de las neuronas dopaminérgicas tanto de forma directa a las conexiones mencionadas anteriormente, como de forma indirecta a través de otras neuronas (Ericson, Löf, Stomberg, Chau, y Söderpalm, 2008; Okamoto, Harnett, y Morikawa, 2006). Además, el incremento de disparo de estas neuronas dopaminérgicas con el consumo agudo de alcohol, da lugar a incrementos de dopamina en las áreas a las que estas neuronas proyectan (Yim y Gonzales, 2000). A medida que los individuos consumen alcohol, los incrementos en sus niveles de dopamina se asocian con estímulos que predicen un posible acceso al alcohol, lo que apoya la idea de que la dopamina juega un rol en el aprendizaje sobre contextos ambientales que facilitan el consumo de alcohol (Lovinger, 2008).

Por último, la serotonina es un neurotransmisor de la familia de las monoaminas, grupo que participa en numerosas funciones tales como aprendizaje, memoria, sueño y estado de ánimo (Kandel et al., 2000). Los centros cerebrales que proyectan la serotonina, lo hacen sobre el córtex cerebral y el prosencéfalo. Puede modular la acción del neurotransmisor GABA, provocando una inhibición rápida en neuronas postsinápticas. El consumo agudo de alcohol potencia la función de los receptores ionotrópicos 5-HT₃, provocando, a su vez, liberación rápida de GABA con resultado de inhibición postganglionar y efectos relajantes (Loving, 1999).

Como factor limitante, es de rigor exponer que, en ocasiones, resulta difícil controlar las condiciones experimentales y conseguir resultados reproducibles en lo referente a los cambios moleculares provocados por el alcohol, probablemente debido a la baja afinidad de las interacciones del etanol con moléculas target y a los pequeños tamaños del efecto (Möykkynen y Korpi, 2012). Resulta complicado, también según estos mismos autores, determinar qué acciones del etanol se involucran en la intoxicación del etanol y cuáles en el desarrollo de la adicción.

Todos los mecanismos y los neurotransmisores implicados en los cambios que la ingesta de alcohol produce a nivel molecular son de interés para esta tesis doctoral por su implicación en la comunicación neuronal que, en definitiva, produce las diferentes fases del RPL que se valoran y comparan en el contenido de este trabajo.

3.6.3.2 Nivel cerebral

Con respecto al SNC, hay multitud de estudios que son dirigidos a analizar los efectos del alcohol sobre la actividad cerebral y, en particular, sobre los sistemas visual y auditivo, con el estudio, por ejemplo, de los potenciales evocados. En este sentido, investigaciones clásicas muestran que los potenciales visuales evocados no se vieron afectados tras ingesta de alcohol (Quintyn, Massy, Quillard, y Brasseur, 1999). En cambio, los estudios que han aportado resultados más interesantes son los que utilizan potenciales evocados auditivos (Estruch, 2002). Estos trabajos han demostrado que tanto dosis bajas como altas de alcohol alteran los potenciales evocados auditivos, pero esta alteración es diferente según el sujeto tenga riesgo bajo o alto de desarrollar alcoholismo (Cohen, Porjesz, Stirnus, y Begleiter, 1998). Por otro lado, se ha encontrado una asociación entre tiempos de respuesta y atenuación de las ondas theta en el córtex cingulado anterior, que suele activarse en conflicto de decisiones, indicando que el alcohol deteriora la preparación y ejecución motora en la que está involucrado dicho córtex (Kovacevic et al., 2012).

También se han investigado los efectos agudos del etanol sobre el metabolismo cerebral utilizando la tomografía de emisión de positrones (PET). Se ha reportado que la actividad global cerebral se reduce con la intoxicación de alcohol (de Wit, Metz, Wagner, y Cooper, 1990). La disminución del metabolismo de la glucosa a nivel cerebral se ha interpretado como un efecto de la potenciación GABAérgica. Recientes investigaciones han documentado mediante PET no sólo una reducción marcada del metabolismo de la glucosa a nivel cerebral (específicamente en cerebelo y córtex occipital), sino también un aumento del consumo de acetato en el cerebro (Volkow et al., 2013), lo que apoya la hipótesis de que durante la intoxicación etílica, el cerebro se sirve del acetato como fuente de energía, desplazando en buena parte al consumo de glucosa.

Otros trabajos han comprobado la influencia específica del alcohol; en concreto, indican que el etanol reduce sobre todo la actividad del córtex occipital (visual) mientras que provoca el aumento de la actividad en el córtex temporal y ganglios basales izquierdos (movimiento, entre otros) (Wang et al., 2000). Otros estudios de estos mismos investigadores han precisado que el córtex parietal izquierdo y el frontal derecho sufren una reducción de la actividad en relación al metabolismo cerebral de la glucosa, y que, por el contrario, las áreas del sistema límbico se muestran más activas con su consumo (Volkow et al., 2008). Estas activaciones e inhibiciones paralelas pueden interpretarse como una pérdida de la organización funcional del cerebro durante la intoxicación alcohólica.

En cuanto al estudio del flujo sanguíneo cerebral con la técnica tomografía computerizada de emisión monofotónica (SPECT) se ha comprobado que a dosis bajas, el consumo de alcohol puntual causa una vasodilatación debido a un aumento del flujo cerebral, mientras que a dosis altas, el alcohol causa una vasoconstricción con reducción del flujo cerebral regional (Tiihonen et al., 1994). Estos investigadores comprobaron igualmente un mayor aumento de la circulación en el lóbulo prefrontal derecho, lo que podría explicar la euforia producida con el consumo alcohólico. Estudios más recientes a partir de nuevas técnicas de imagen por resonancia magnética con contraste de susceptibilidad dinámica (DSC MRI) muestran un incremento del flujo sanguíneo cerebral con una concentración de alcohol en sangre de 0,08% tanto en áreas de materia gris como en áreas de materia blanca (Gundersen, van Wageningen, y Grüner, 2013).

Por otra parte, mediante la resonancia magnética funcional, se han registrado las respuestas de la ínsula anterior a nivel bilateral, área responsable de la conciencia interoceptiva, y se ha comprobado que sus respuestas se muestran atenuadas ante

estímulos emocionales tras consumo agudo de alcohol (Padula et al., 2011). A través de esta misma técnica, se ha mostrado que, tras ingerir alcohol, se registra un deterioro de la conectividad efectiva entre la corteza visual y la corteza motora (Luchtman et al., 2013).

Es de señalar que un reciente estudio ha comparado la eficacia de distintas metodologías para detectar la cantidad de ingesta de alcohol en personas. Como conclusión de este trabajo, se puede aseverar que los registros que proporciona el método de imagen con tensores de difusión se han mostrado más efectivos, no solo en comparación con la resonancia magnética, sino también comparados con la medida etilométrica o la concentración de alcohol en sangre (Kong, Zheng, Lian, y Zhang, 2012). En este experimento se reflejaron el tálamo, el lóbulo frontal y el pedúnculo cerebeloso como las zonas más vulnerables para el efecto del alcohol.

3.6.3.3 Nivel visual y cognitivo

Varios son los informes que han analizado la relación existente entre consumo puntual de alcohol y función visual. En general, la comunidad científica muestra consenso sobre la idea de que el alcohol deprime y ralentiza el procesamiento neural y que este proceso pudiera ser la causa de los cambios observados a nivel del procesamiento visual de estímulos (Khan y Timney, 2007b).

Concretamente, los investigadores han demostrado que picos de alcohol en sangre de 0,8-1,3‰, perjudican tanto la percepción de profundidad, como la memoria visual a corto plazo (Wegner y Fahle, 1999) y han detectado que el alcohol reduce la inhibición lateral en el procesamiento visual humano (Johnston y Timney, 2008; Johnston y Timney, 2013). Además, el etanol altera significativamente la agudeza visual dinámica (Schmäl, Thiede, y Stoll, 2003), la estereoagudeza y visión binocular (Watten y Lie, 1996), así como la eficiencia en la búsqueda visual (Abroms y Fillmore, 2004), y la habilidad de disociar la atención de la mirada (do Canto-Pereira, David, Machado-Pinheiro, y Ranvaud, 2007).

Existen aspectos de la función visual que no se ven modificados por el efecto del alcohol. Por ejemplo, se ha encontrado que, en moderadas cantidades, la adaptación a la oscuridad humana y a los umbrales de incremento de la luminancia no se ve afectada por la ingesta de alcohol (Khan y Timney, 2007a). De la misma manera, no se han observado cambios en la función de sensibilidad al contraste, ni en medidas del campo visual. La acomodación tampoco se ha visto afectada por el alcohol (Watten y

Lie, 1996), así como las tareas de atención espacial (McKinney, Coyle, y Verster, 2012).

Sin embargo, se han detectado, errores en el test de funciones ejecutivas Wisconsin sorting card test, lo que puede explicar que el desempeño visual durante la intoxicación está más afectado por la alteración en las funciones cerebrales que por las alteraciones visuales (Quintyn et al., 1999).

Se ha comprobado que el alcohol no sólo afecta críticamente tras su inmediato consumo, sino que también tiene efectos en diferido en las horas sucesivas a la ingesta. En este sentido, un estudio interesante a reseñar analizó diferentes aspectos de la función visual y encontró que el tiempo de reacción, la atención dividida, la atención selectiva y la interferencia semántica en el tiempo de reacción (test de Stroop), se vieron mermados en individuos con concentraciones de alcohol en sangre de 0,08%. Además, es inesperado el hecho de que la disminución en las capacidades visuales continuaron mermadas en la evaluación de la mañana posterior a la ingesta de alcohol, siendo el nivel de alcoholemia del 0,00% (McKinney et al., 2012).

En definitiva, se debe reseñar que científicamente no se ha encontrado un umbral para el efecto del alcohol por debajo del cual no se produzcan consecuencias sobre alguna de las habilidades de un individuo (Ogden y Moskowitz, 2004).

4 JUSTIFICACIÓN

La justificación de esta tesis doctoral se basa en los siguientes puntos:

- El sistema nervioso autónomo y el sistema nervioso central están implicados en el reflejo pupilar a la luz. Por tanto, la pupila es una estructura relevante para evaluar el equilibrio del sistema nervioso.
- El reflejo pupilar a la luz no es manipulable por parte del sujeto examinado lo que impone el grado de objetividad necesario para cualquier indicador válido.
- El reflejo pupilar a la luz es registrado mediante metodología no invasiva, lo que le convierte en una medida con posibilidad universal, y adecuada para evaluar a personas de cualquier edad y con cualquier condición psicofísica.
- Los valores pupilares de carácter estático y, principalmente dinámico, en etapas anteriores, no han podido ser evaluados pormenorizada y rigurosamente por falta de instrumentación avanzada. En la actualidad, el desarrollo tecnológico posibilita la obtención de medidas precisas que constituirán un patrón de variaciones pupilares en la población.
- La medida del reflejo pupilar dinámico mesópico conlleva la unificación de las condiciones experimentales, dando lugar a la objetivación de las respuestas pupilares discretas y continuas.
- El patrón del reflejo pupilar dinámico mesópico posibilita, por comparación, conocer las variaciones para distintos rangos de edad y distintas situaciones psicofísicas y psicofisiológicas.

En consecuencia, este trabajo se justifica para conocer la necesidad de la implementación de la pupilometría dinámica mesópica, como metodología objetiva para colaborar en el diagnóstico precoz de patologías neurodegenerativas, así como para detectar y cuantificar el consumo de sustancias psicotrópicas.

5 HIPÓTESIS

5.1 HIPÓTESIS CONCEPTUAL

La edad y la ingesta de alcohol son factores que varían las distintas fases del reflejo pupilar mesópico producido por la incidencia de luces monocromáticas y luz blanca.

5.2 HIPÓTESIS FISIOLÓGICA

Los parámetros simpáticos y parasimpáticos de la función pupilar muestran variaciones en las medidas evaluadas, por influencia de la edad y de la ingesta de alcohol.

6 OBJETIVOS

6.1 OBJETIVOS GENERALES

Los objetivos generales son:

- Valorar el diámetro pupilar basal y los cambios en las fases del diámetro pupilar mesópico producidos por estímulos luminosos de diferente longitud de onda para conseguir valores-patrón en función de la edad.
- Evaluar las variaciones del diámetro pupilar basal mesópico producido, en una muestra de jóvenes, en función de la ingesta progresiva de alcohol.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el diámetro pupilar basal en niveles de iluminación mesópica para una muestra de personas mayores de 16 años de ambos sexos.
2. Medir las variables de latencia, amplitud y velocidad de respuesta pupilar mesópica para estímulos luminosos monocromáticos de 600 nm, 510 nm y 450 nm, así como para estimulación de luz blanca de 5600° K, en dos grupos de edad (menores y mayores de 45 años).
3. Establecer la influencia de la edad y la longitud de onda del estímulo incidente en las variables de latencia, amplitud y velocidad de respuesta pupilar mesópica para estímulos luminosos monocromáticos de 600 nm, 510 nm y 450 nm y estimulación de luz blanca de 5600° K entre dos grupos de edad (mayores y menores de 45 años).
4. Evaluar el diámetro pupilar y calcular su variación en el nivel de iluminación mesópica, para una población joven, en función de la concentración de alcohol en aire espirado debido a la ingesta progresiva de bebida alcohólica.

7 MUESTRA, MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 MUESTRA

Este apartado se divide en función de los dos experimentos diseñados y, en consecuencia, de los dos grupos muestrales analizados. Para esta tesis doctoral, se denominará muestra del experimento I a los individuos cuyos datos se han utilizado para patronizar las respuestas del reflejo pupilar mesópico a luces monocromáticas y blanca; y se llamará muestra del experimento II al conjunto de jóvenes estudiados que ingirieron alcohol de manera controlada y a los que se les registró las variaciones de las fases del reflejo pupilar mesópico después del consumo progresivo de bebida alcohólica.

7.1.1 Características de persona. Experimento I.

La muestra estuvo compuesta por 97 voluntarios (40 hombres; 57 mujeres), de edades comprendidas entre 16-78 años con ausencia de enfermedades manifiestas tanto oculares como sistémicas. La muestra se dividió en dos grupos de acuerdo a la edad: jóvenes adultos [n=71 (28 hombres; 43 mujeres); rango de edad: 16-45 años; media y desviación típica: 26,10 y 7,2 años]; y adultos mayores [n=26 (11 hombres; 15 mujeres); rango de edad: 46-78 años; media y desviación típica 58,34 y 9,1 años].

El corte de edad de los grupos en los 45 años se basó en el incremento potencial de cambios en el cristalino y, por tanto, en la opacidad de los medios debida a estrés oxidativo, datos que figuran en la literatura reciente (Kaur et al., 2012; Petrash, 2013; Prokofyeva et al., 2013). Las cataratas incipientes o maduras pueden producir distintos fenómenos como dispersión y halos además de dificultar el ingreso de la luz hacia los receptores y en consecuencia, anular o variar el reflejo pupilar a la luz.

7.1.2 Características de persona. Experimento II.

En la investigación de la influencia de la ingesta de alcohol en el diámetro pupilar basal mesópico, la edad media y desviación típica de los 19 participantes de este experimento fue de 25,57 y 6,2 años, y los pesos y alturas medios en función del sexo fueron 59 kg y 1,67 m para las mujeres, y 73,20 kg y 1,77 m para los hombres,

respectivamente. El índice de masa corporal resultante presentó una media y desviación típica de 22,9 y 2,7 para los hombres y 21,10 y 3,6 para las mujeres.

En total, 19 sujetos sanos, sin enfermedades sistémicas y oculares manifiestas, se ofrecieron como voluntarios tras ser informados del estudio. El grupo estuvo constituido por 7 mujeres y 12 hombres. El rango de edad de los participantes estuvo entre 21 y 45 años. Todos firmaron un consentimiento informado que implicaba el consumo gradual total de 2 litros de cerveza (5,5% alcohol), lo que supuso la ingesta 110 ml de alcohol durante cuatro horas (ver metodología).

Al total de la muestra se le aplicó un cuestionario que recogía información demográfica, consumo de medicación y estimulantes, e historia de enfermedades sistémicas y oculares (ver anexo correspondiente).

7.1.3 Criterios de inclusión y exclusión. Experimento I.

Los criterios de inclusión en este experimento fueron manifestar un buen estado de salud general y ocular y estar incluido en un rango de edad entre 16 y 80 años.

Los criterios de exclusión fueron manifestar padecer una enfermedad metabólica, neurodegenerativa o sistémica que afectase al sistema nervioso y/o presentar una alteración genética de la percepción del color (discromatopsia). Esta última condición fue implementada debido a la posible influencia en las respuestas a la percepción del color, ya que los estímulos eran fuentes de luz monocromáticas (450 nm, 510 nm, y 600 nm) que podrían producir un procesamiento de la señal visual distinto en personas con anómala discriminación del color.

7.1.4 Criterios de inclusión y exclusión. Experimento II.

Los criterios de inclusión en este experimento fueron poseer una edad inferior a 45 años y manifestar un estado de salud ocular y sistémica sin presencia de patología.

Los criterios de exclusión fueron manifestar padecer una enfermedad metabólica o sistémica que afectase al sistema nervioso. Además, en este experimento II, se estableció como criterio de exclusión adicional que los sujetos se encontraran fuera de la normalidad en lo que respecta a su Índice de Masa Corporal (IMC); es decir, fuera del intervalo de 18,5 kg/m² a 25 kg/m².

7.2 MATERIAL

7.2.1 Pupilómetro

El instrumento utilizado para realizar las medidas de los diámetros pupilares fue el pupilómetro dinámico binocular Power Refractor II (Plusoptix, Alemania). Este instrumento, mide diámetros pupilares de entre 4 y 8 mm con una precisión de 0,1 mm y con un error de $\pm 0,3$ mm, y determina también la distancia interpupilar con una precisión de 1 mm. Además, realiza una medida cada 0,04 s, lo que supone 25 registros por segundo. Junto con las medidas de pupilometría dinámica, el pupilómetro Power Refractor II proporciona datos sobre la refracción monocular, valorando ametropías esféricas en un rango comprendido entre +5.00 y -7.00 D en pasos de 0,25 D, con un error de $\pm 0,25$ D (ver anexo 13.3).



Figura 23. Cámara y anillo LED del pupilómetro Power Refractor II (PlusOptix, Alemania).

Desde el punto de vista de su estructura, los componentes de los que consta son: una cámara infrarroja (figura 23) que permite la grabación de las secuencias pupilares, así como un adaptador de señal que transforma la señal binaria enviada por la cámara en imagen digital.

La imagen digital, junto con los registros numéricos referentes a las variables relacionadas con la refracción y el diámetro pupilar, aparecen en la pantalla del ordenador portátil conectado al adaptador (figura 24). La frecuencia de medida del aparato Power Refractor II es de 25 Hz.

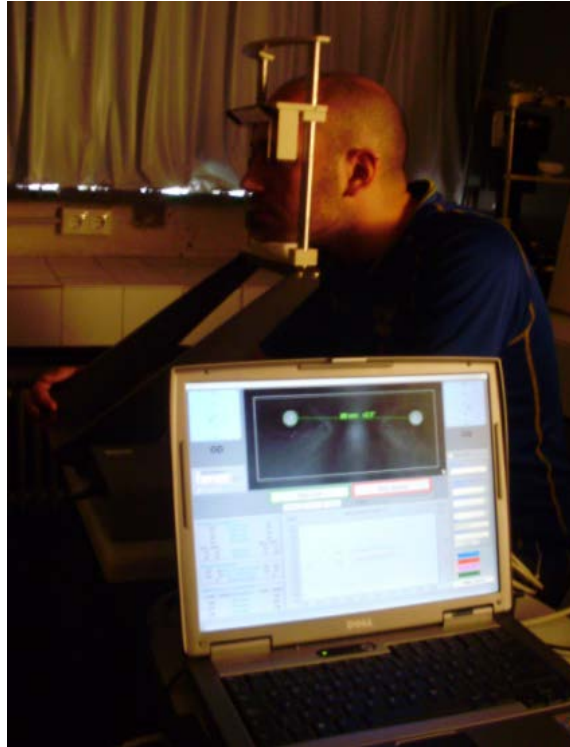


Figura 24. Ordenador portátil y software de registro de Power Refractor II (PlusOptix, Alemania). La fotografía recoge el ambiente de iluminación mesópico para el buen desarrollo del experimento.

7.2.2 Radiómetro y espectrómetro

Los radiómetros cuantifican la energía radiante sobre una banda definida del espectro electromagnético de energía. El radiómetro utilizado para estos experimentos fue el PM100D (Thorlabs Inc., New Jersey, EEUU) en el caso del estímulo puntual y Mavolux 5032B (Gossen, Alemania) para la iluminación ambiente.

Además, para medir la composición espectral de la luz de una fuente luminosa, con o sin, interposición de filtros, se utilizó un espectrofotómetro (figura 25a y b). En este caso, el espectrómetro utilizado para ambos experimentos es el USB2000 (Ocean Optics, Florida, EEUU), calibrado para detectar máximos de curva de emisión de 450 nm, 510 nm y 600 nm.



Figura 25a. Espectrómetro USB2000 (Ocean Optics, Florida, USA).



Figura 25b. Sonda del espectrómetro USB2000 (Ocean Optics, Florida, USA).

7.2.3 Filtros

Para la obtención de una determinada longitud de onda de la luz o atenuar la potente luz blanca, se utilizaron, filtros ópticos. Los filtros utilizados en este estudio fueron:

1. Un filtro atenuador o de densidad óptica Neutra 0.5 (Edmund Optics, Nueva Jersey, EEUU).
2. Tres filtros interferenciales de 450 nm, 510 nm y 600 nm (Edmund Optics, Nueva Jersey, EEUU).

Las curvas de transmitancia (figura 26) obtenidas tras la aplicación de cada filtro tuvieron su máxima respuesta en 450 nm, 510 nm y 600 nm. La luz blanca queda representada en la figura por una función que incluye todas las longitudes de onda del espectro visible.

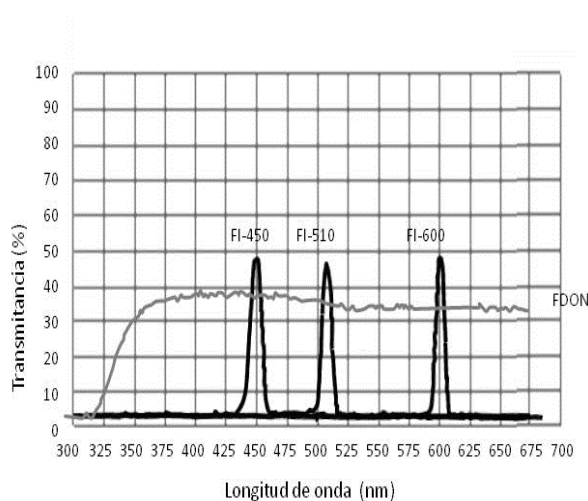


Figura 26. Curvas de transmitancia de los filtros interferenciales de 450 nm, 510 nm y 600 nm y del filtro de densidad óptica neutra (FDON).

7.2.4 Fuente luminosa estimuladora



El flash (figura 27) utilizado para el presente experimento fue el flash Mecablitz 60 CT-1 (Metz, Alemania). Su temperatura de color es de 5600° K. La duración de sus destellos fue de 0,1 a 0,01 segundos. La luz se transmitía por un orificio central de 3 mm de diámetro realizado *ad hoc*, que lograba evitar la dispersión masiva de la luz.

Figura 27. Flash Mecablitz 60 CT-1.

Con objeto de sujetar debidamente y ajustar los filtros ópticos al propio dispositivo flash, se anexó a la misma pantalla de luz del flash un marco metálico de modo que constituyese una estructura que soportara los filtros. Asimismo, se colocó el flash en modo de funcionamiento automático en donde el sensor detectaba la luz reflejada por el objeto y cortaba inmediatamente el destello en el momento que llegaba a la dosis de luz precisa para una exposición de estimulación adecuada. El flash subtendió un ángulo de 6,01° en los ojos del examinado a una distancia de 2 metros.

Como se ha comentado, esta luz se transmitía a través de los filtros de densidad óptica neutra y/o interposición. Estos estaban colocados sobre la apertura del foco de luz y, por tanto, absorbieron ésta de una manera concreta (blanco (5600° K), azul (450 nm), verde (510 nm) y rojo (600 nm), respectivamente). La intensidad de la iluminación emitida por el flash fotográfico con la aplicación de los filtros fue inferior a 5 luxes de intensidad. Esta intensidad de luz favorece una constricción de aproximadamente el 30% del diámetro pupilar basal, lo que impide saturar el reflejo pupilar a la luz o producir la percepción de postimágenes (Bremner, 2012).

7.2.5 Test de Ishihara

El Test de Ishihara está constituido por láminas donde se visualizan números o figuras compuestos por círculos de diferente tamaño que presentan mezclas de colores confundibles extraídos de líneas pseudoisocromáticas para personas con discromatopsia. En general, está compuesto por 25 láminas, cuyas cuatro últimas

consiguen la discriminación del tipo de anomalía del eje rojo-verde (protanomalia/deuteranomalia/protanopia/deuteranopia). Se exponen algunos ejemplos en la figura 28



Figura 28. Cartas de Ishihara relativas al número 12, número 6, dígito oculto y número 42.

7.2.6 Etilómetro



Figura 29. Etilómetro Alcotest 6810 (Dräger, Alemania).

Para detectar las cantidades de alcohol en aire espirado en el segundo experimento se utilizó un etilómetro Alcotest 6810 (Draeger, Alemania). Se trata de un etilómetro portátil (figura 29) que ofrece las mediciones de miligramos de alcohol por litro de aire espirado. Está controlado por un microprocesador, cuyo sensor electroquímico reacciona de forma rápida y específica al alcohol. El aparato funciona mediante pilas alcalinas y conlleva una precisión de $\pm 0,005\%$. Su rango de medida se encuentra entre 0,00 y 5,00‰. Se incluyen en el kit de este dispositivo, boquillas desechables, a través de las que se sopla levemente para obtener las medidas de concentración de alcohol en aire espirado.

7.2.7 Cuestionarios de recogida de datos

El cuestionario elaborado exclusivamente para el desarrollo de esta tesis doctoral, constaba de unos ítems donde se recogieron los datos personales de cada individuo como sexo, edad y fecha de nacimiento, las enfermedades sistémicas, metabólicas y neurodegenerativas y oculares que manifestaron padecer los participantes y el consumo de medicamentos (ver anexo 13.4). Como se ha expuesto

en el apartado de los criterios de exclusión, se eliminó de manera automática a la persona que manifestase padecer alguna enfermedad.

7.2.8 Archivo de protección de datos

Para preservar la privacidad de las personas evaluadas, se elaboró un documento donde se relacionó el código de identificación con las variables personales que debían preservar. Esta relación de códigos e identificación se custodió en un ordenador independiente para cumplir la normativa vigente.

7.2.9 Software

7.2.9.1 *Software Plusoptix*

En primer lugar, se utilizó el *software Plusoptix* incorporado en el propio pupilómetro y que permite el registro y extracción de los datos obtenidos por la cámara infrarroja. El software Plusoptix registra y procesa el continuo del diámetro pupilar a lo largo del tiempo, compilando los valores requeridos en archivos .csv.

7.2.9.2 *Software Cabanillas*

Posteriormente, se desarrolló *ad hoc* un interfaz de usuario, llamado en este trabajo *Cabanillas software* (ver anexo 13.5) y programado en java-swing (Sun Microsystems, USA) para parsear los datos (descifrado de sintaxis) y poder realizar tres pasos clave:

1. Analizar correctamente los datos.
2. Realizar cálculos para obtener resultados de latencia, amplitud de respuesta, y velocidad media de constricción.
3. Visualizar gráficas sobre el comportamiento pupilar como respuesta a estímulos luminosos.

Esta aplicación informática permite, además, recopilar y cruzar los datos obtenidos con una base de datos determinada, almacenando todos estos resultados en archivos con un formato xls que facilita posteriormente la realización de la estadística. La aplicación *Cabanillas software* posibilita ignorar fenómenos como el parpadeo y eliminar el ruido registrado en la señal pupilar (figura 30), entendiendo éste como mediciones consecutivas que se anulan unas con otras.

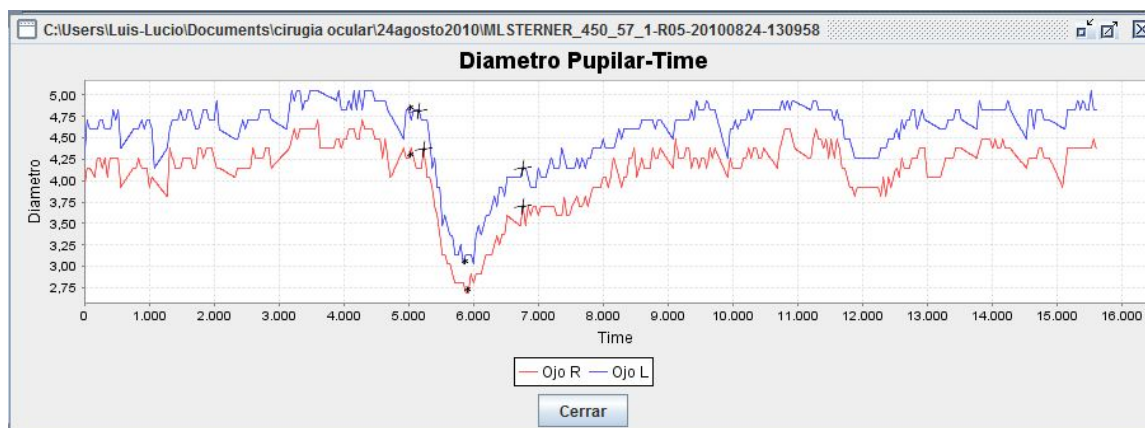


Figura 30. Curva obtenida por el software Cabanillas una vez eliminado el ruido y el parpadeo.

Sin la capacidad de extrapolación del software Cabanillas, la señal, como refleja la figura 31, queda representada con caídas y mayor nivel de ruido, representando éstas los parpadeos y pérdidas.

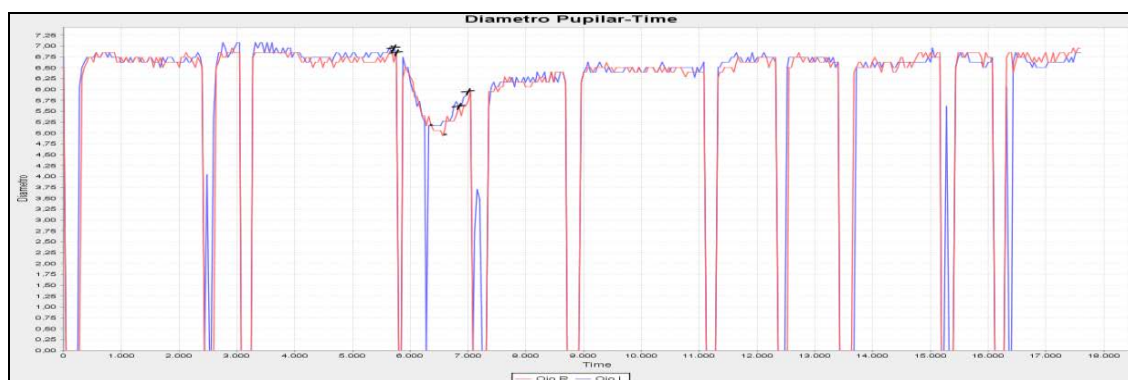


Figura 31. Señal proporcionada por software Cabanillas donde se aprecia el reflejo pupilar a la luz y parpadeos en forma de caídas.

7.3 MÉTODO

7.3.1 Consentimiento informado.

El estudio se realizó con las recomendaciones de la Declaración de Helsinki y el protocolo de estudio se aprobó por el Comité de Ética del Hospital Universitario de Getafe (Madrid, España). Antes de dar su consentimiento informado, los voluntarios fueron informados del protocolo de actuación.

7.3.2 Diseños de los experimentos

En el caso del experimento I, donde se evalúa la influencia de los factores edad y longitud de onda del estímulo excitador sobre los diversos parámetros de la respuesta pupilar, se diseñó un estudio transversal en el que cada persona fue sometida a las cuatro estimulaciones luminosas propuestas (estimulación luminosa blanca, azul-450 nm, verde-510 nm y roja-600 nm). Previamente, las personas estuvieron en un período de adaptación a la oscuridad de 10 minutos para conseguir la misma situación experimental de partida.

Por otro lado, en el experimento II, y con el fin de conocer el efecto de la ingesta de alcohol sobre el diámetro pupilar basal, los sujetos pasaron por varias etapas experimentales que incluían una primera medida sin ingesta de alcohol, y cuatro sesiones donde el mismo consumo de alcohol da lugar a una tasa de alcohol en sangre y en aire espirado acumulativa. Todos los participantes realizaron las cuatro ingestas de alcohol, salvo dos, que sólo consumieron hasta la tercera dosis. Dado que cada toma consistía en la ingestión de una cerveza con un volumen de 500 ml (27,5 ml de etanol o alcohol etílico), al final del experimento, tras las cuatro tomas, los sujetos habían consumido 110 ml de alcohol etílico en un intervalo de 5 horas (ver protocolo de actuación).

7.3.3 Ubicación y temporalidad de los experimentos: Características

Las mediciones se realizaron en el último semestre de 2010 y en el primer semestre de 2011. Se tuvo en cuenta la hora del día de la toma de los registros tratando de controlar una posible variable de confusión en función de las variaciones del ritmo circadiano. Por ello, todas las sesiones se realizaron entre las 8 de la mañana y las 16.00 de la tarde. Las valoraciones estuvieron realizadas siempre por el mismo examinador. El lugar donde se desarrollaron las pruebas fue el Laboratorio de Neuro-Computación y Neuro-Robótica de la Facultad de Óptica de la Universidad Complutense de Madrid.

La sala acondicionada para el registro de medidas tenía unas proporciones de 3x4 metros. Todas las ventanas, puertas o ingresos de luz fueron protegidos por aislamiento de telas “foscure” negra con objeto de evitar la iluminación exterior. La temperatura de la sala en todas las sesiones fue estable entre 21°C y 25°C.

7.3.4 Protocolos de actuación de los experimentos.

7.3.4.1 Experimento I

Las medidas en el experimento I fueron realizadas en todo momento en la sala de medidas anteriormente descrita y en el horario establecido en el apartado previo. Tras numerosos intentos de calibrado, se consiguió una iluminación ambiente homogénea, dentro de las condiciones mesópicas; concretamente de $0,3 \text{ cd/m}^2$.

Con relación a la posición de los elementos necesarios para la realización de las pruebas, se debe indicar que los sujetos fueron posicionados a 1 metro de la cámara del pupilómetro, tal y como indican sus instrucciones de uso, y a 2 metros del flash estimulador (figura 32).

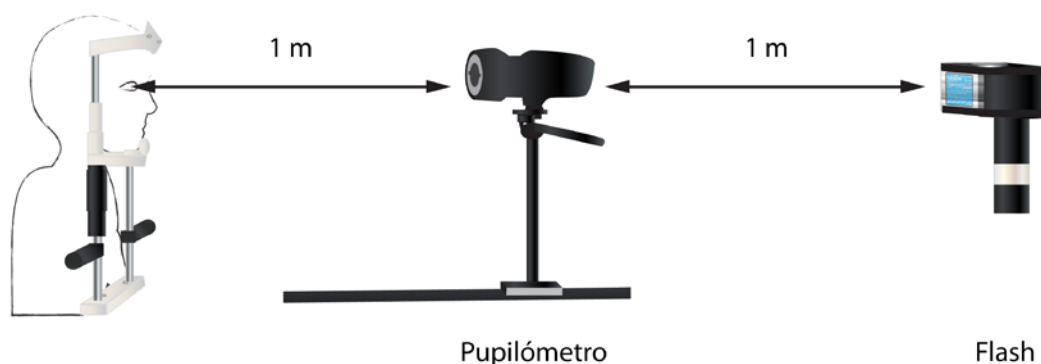


Figura 32. Disposición relativa de los elementos para el experimento I y II. Obsérvese el filtro aplicado a la superficie del flash estimulador en el modelo, tal y como se hizo en el experimento original.

Antes de comenzar cualquier registro, se sometió a los sujetos a la prueba de Ishihara para detectar posibles anomalías en la percepción del color que hubieran supuesto una variable contaminante en la reacción pupilar a estímulos de diferente longitud de onda (450 nm, 510 nm y 600 nm). Posteriormente se realizó una completa anamnesis.

Imprescindible para la realización correcta de esta investigación, fue la adaptación a la oscuridad, que se realizó después de las pruebas de discromatopsia y de la aplicación del cuestionario previamente descrito. Los sujetos fueron adaptados a la oscuridad durante 10 minutos.

Para una correcta evaluación de los cambios en el diámetro pupilar mesópico, y debido a la existencia de dispositivos situados a distintas distancias del sujeto

(pupilómetro-1 metro, flash-2 metros), se consideró conveniente establecer un punto de fijación a 5 metros del participante con objeto de evitar la acomodación a estímulos más cercanos como el anillo LED del pupilómetro.

El protocolo de evaluación fue el siguiente: En primer lugar, previamente al estímulo luminoso se realizó una grabación de 6 segundos para estabilizar la fijación de la persona. Inmediatamente después, se estimuló con luces de diferentes longitudes de onda con orden aleatorio de presentación. El tiempo total de grabación para cada estimulación fue de 16 segundos. Tal y como refieren algunos estudios consultados (Daneault et al., 2012), en el presente experimento se impuso un intervalo de 2 minutos entre registro y registro con diferente estimulación con intención de permitir la recuperación del sistema visual del examinado y no incurrir en errores de saturación. Se quiere reiterar que el orden de la emisión de los estímulos luminosos fue randomizado. Finalmente, todo el proceso suponía un tiempo de estimulación y de intervalo de reposo entre 10 y 12 minutos.

7.3.4.2 Experimento II

En el experimento II sobre la influencia de la ingesta de alcohol en el diámetro basal pupilar mesópico, se instó a los integrantes de la muestra de este experimento a ingerir un desayuno que se valoró energéticamente en 400 kilocalorías. A partir de este momento, todas las condiciones de adaptación a la oscuridad, se realizaron de la misma manera que en el experimento I. En las siguientes sesiones de consumo progresivo de alcohol, y tras la adaptación a la oscuridad se actuó siguiendo un protocolo especial que se explica a continuación:

Después del tiempo de adaptación estipulado, y en los siguientes 35 minutos, el voluntario ingirió 0,5 l de cerveza (27,5 ml de etanol). La cerveza utilizada en el estudio contenía una graduación de 5,5° de alcohol y se tomaba en unidades de 500 ml. Inmediatamente después del consumo de la primera cerveza, el sujeto se instaló en un dispositivo de fijación que incluía una mentonera y un frontal, situado a 1 m de la cámara del pupilómetro dinámico, y el experimentador realizaba la primera ejecución del comando del interfaz del programa Plusoptix, quedando así grabado el registro pupilométrico evaluando el diámetro pupilar. Como paso final, el experimentador registró la medida etiométrica correspondiente al primer turno de medidas pupilares.

Previamente al segundo registro, el sujeto estuvo en reposo a lo largo de 45 minutos (10 minutos de nueva adaptación a la oscuridad y 35 minutos de ingesta de

alcohol en la oscuridad). A partir de ese momento, se registró una segunda vez el diámetro pupilar basal en reposo y al final de esta valoración se registró nuevamente con el etilómetro la medida de concentración de alcohol en aire espirado. Exactamente el mismo procedimiento se repitió para la tercera y cuarta toma de alcohol. En total, el protocolo en su conjunto de la evaluación fue de entre 4 y 5 horas por persona.

A continuación se ofrece un esquema de la metodología experimental en la figura 33:

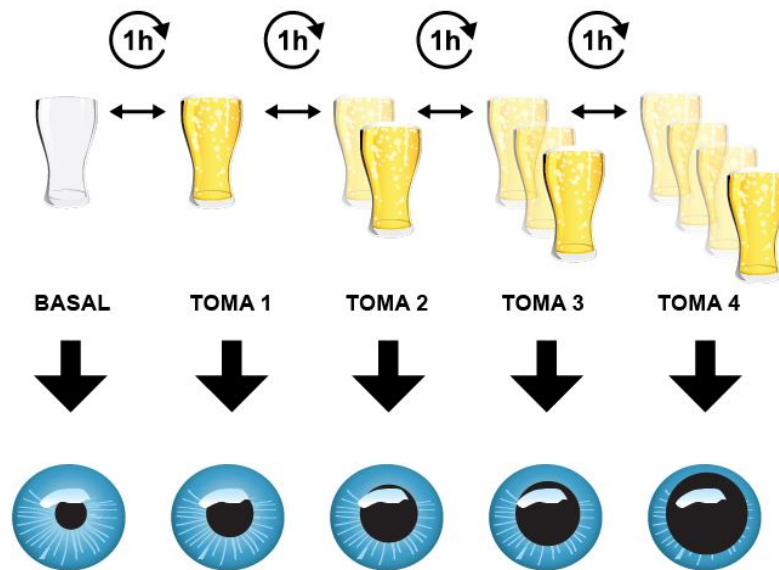


Figura 33. Esquema de metodología del experimento. Tiempo de espera entre registro y registro y medición pupilar.

7.3.4.3 Protocolo de tratamiento de datos en ambos experimentos

A nivel de tratamiento de datos, de cada paciente analizado, se registraron una serie de valores que, de forma constante, iban apareciendo en el interfaz del software Plusoptix (figura 34), del que se sirve el instrumento para las medidas. Estas secuencias de valores se almacenaron en logfiles o ficheros de trazas de ejecución (.csv) para mejorar su operatividad y poder realizar los cálculos estadísticos oportunos.

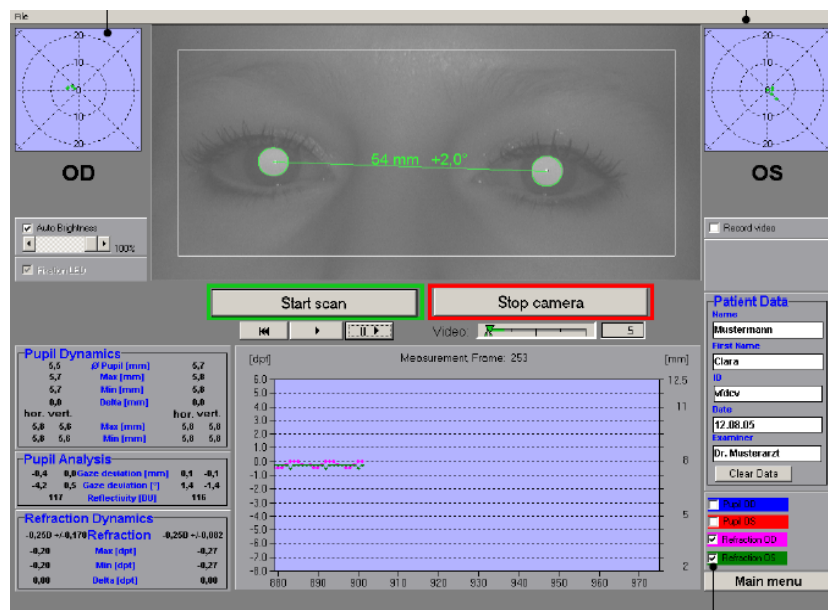


Figura 34. Interfaz Power Refractor II (Plusoptix, Alemania).

Los ficheros csv (del inglés comma-separated values) son un tipo de documentos en formato abierto y sencillo que se pueden visualizar a través de las hojas de cálculo habituales tipo Microsoft Excel (Microsoft, EEUU) como puede apreciarse en la figura 35.

ttness()	PupilFound()	PupilSizeMM	PupilSizeMM	PupilDiamet	PupilBrightn	Purkinje
100.000	1	4.938.523	4.938.523	4.938.523	115.192.308	6.000
100.000	1	4.938.523	4.714.045	4.824.979	114.920.000	6.000
100.000	1	4.938.523	4.938.523	4.938.523	113.500.000	6.000
100.000	0	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
100.000	1	4.938.523	4.938.523	4.938.523	114.961.538	6.000
100.000	1	4.938.523	4.938.523	4.938.523	115.269.231	5.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	116.000.000	5.000
100.000	1	5.836.437	5.387.480	5.607.467	113.461.538	5.000
100.000	1	5.163.002	4.714.045	4.933.419	117.840.000	5.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	118.923.077	5.000
100.000	1	4.938.523	4.938.523	4.938.523	118.961.538	5.000
100.000	1	5.163.002	5.163.002	5.163.002	118.692.308	5.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	118.538.462	6.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	119.384.615	6.000
100.000	1	5.163.002	4.714.045	4.933.419	120.920.000	6.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	119.692.308	6.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	120.615.385	6.000
100.000	1	5.163.002	4.938.523	5.049.515	122.076.923	6.000
100.000	1	5.387.480	5.387.480	5.387.480	123.153.846	6.000

Figura 35. Logfile generado por el software del instrumento Power Refractor II (Plusoptix, Alemania).

Cada columna visualizada de la figura 35 comprende las mediciones en cada una de las variables que aporta el pupilómetro: diámetro pupilar en el eje horizontal, diámetro pupilar en el eje vertical, refracción y otras.

En el momento en el que el flash es disparado, se genera una marca (llamada técnicamente demonio) en una fila específica dentro de este archivo que es de suma

utilidad para calcular los parámetros que se necesitan evaluar en el RPL. Gracias a este indicador, los archivos fueron parseados por el software desarrollado específicamente para este trabajo (*software Cabanillas*), recogiendo uno a uno los 481 registros efectuados (388 registros relativos al experimento I y 93 registros pertenecientes al experimento II), en una base de datos que refleja los valores obtenidos para cada individuo.

Una vez analizados todos los archivos, se compilaron en Excel y se realizó el tratamiento estadístico oportuno mediante el software Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Virginia, EEUU).

7.3.5 Variables analizadas

Las variables dependientes que se establecieron como objeto de estudio fueron cinco:

Diámetro pupilar basal mesópico: Promedio de tamaño (mm) desde el segundo 0 hasta el momento del estímulo (en oscuridad).

Incremento de diámetro pupilar basal mesópico (INC): Diferencia (mm) entre el diámetro pupilar después de cada ingesta y el diámetro pupilar de la toma 0 (esta variable se considera únicamente en el experimento II).

Latencia: Tiempo (ms) que transcurre desde la aparición del estímulo hasta que se detecta el inicio de una variación consistente de tipo miótico.

Amplitud de respuesta del reflejo pupilar: Tamaño (mm) resultante de la diferencia entre el diámetro que se obtiene cuando comienza la reacción pupilar a la luz y el diámetro obtenido en el punto máximo de la constricción.

Velocidad de constricción media: Velocidad media resultado de la división entre el espacio de amplitud de constricción y el tiempo que tarda en recorrer dicho espacio (mm/ms).

Las cuatro variables estudiadas en el experimento I se representan gráficamente en la figura 36:

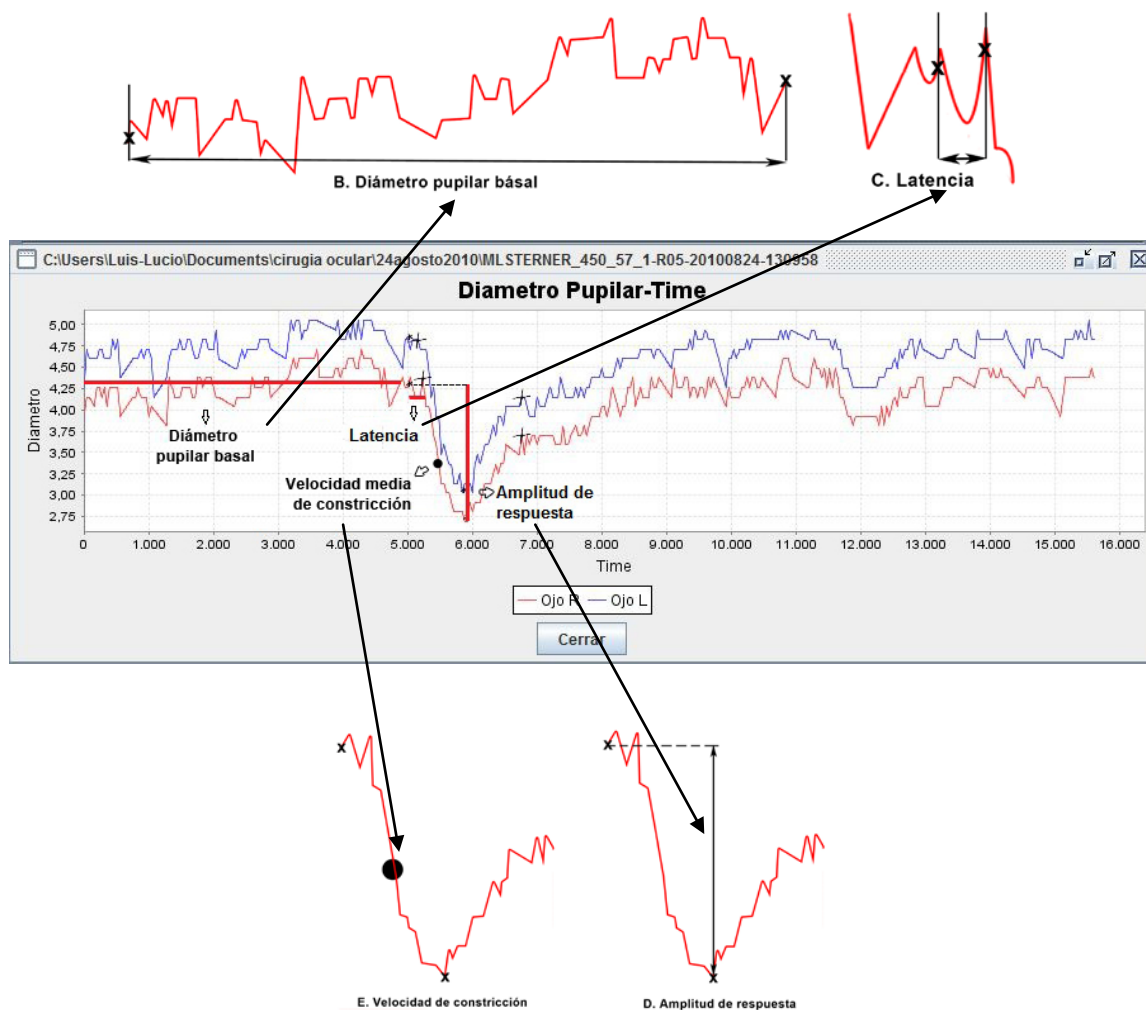


Figura 36. Marca indicador que denota el inicio de la estimulación y que resulta imprescindible para el cálculo de las diferentes variables del RPL, también expresadas en la gráfica.

7.3.6 Metodología estadística

El tratamiento estadístico del experimento I se inició con un análisis de Modelos Lineales Generalizados (MLG) que incluía tres factores categóricos: longitud de onda, grupo de edad y código de participante, éste último anidado dentro del grupo de edad. El código de participante fue incluido con objeto de minimizar la variabilidad interindividual, aumentando así la potencia estadística.

El MLG se llevó a cabo para tres variables dependientes: latencia, amplitud de respuesta y velocidad de constricción, ya que estas variables son parámetros que derivan del RPL, al contrario que el diámetro pupilar basal, que se registraba siempre antes de las estimulaciones lumínicas. Para la respuesta de amplitud, el código de

participante fue sustituido por la covariable diámetro pupilar basal, para descartar su influencia en la amplitud de respuesta.

El análisis MLG incluyó las interacciones entre longitud de onda y grupo de edad. La significación estadística en estas variables analizadas indicaría que las diferencias mostradas en las respuestas de acuerdo a la longitud de onda dependen del grupo de edad y viceversa. En tal caso, se requeriría analizar el efecto de cada uno de los factores en cada nivel del otro factor sobre las variables en estudio. Es decir, el efecto del grupo de edad para cada longitud de onda y el de la longitud de onda para cada grupo de edad, sobre dichas variables. A tal fin, se realizaron, un análisis de la varianza bifactorial en un diseño de bloques completos aleatorios, la prueba t de Student y análisis de la covarianza (éste último exclusivamente para la amplitud de respuesta, incluyendo el diámetro pupilar basal como covariable).

En primer lugar, respecto a la influencia de longitud de onda, el ANOVA bifactorial con diseño de bloques completos aleatorios fue llevado a cabo para cada uno de los grupos de edad, con objeto de utilizar el hecho de que las respuestas a diferentes longitudes de onda están originadas del mismo grupo de sujetos (datos pareados). En cada grupo de edad, la longitud de onda y el código de participante fueron utilizados como factores. Si se obtiene significación estadística para longitud de onda, las comparaciones múltiples se realizan con el procedimiento de la diferencia mínima significativa de Fisher en análisis post-hoc.

Por último, para analizar el efecto de la edad de manera independiente en las diferentes longitudes de onda, los datos para cada variable de ambos grupos de edad para cada longitud de onda fueron comparados por medio de las pruebas t de Student. En relación a la amplitud de respuesta, sin embargo, y dado que el diámetro basal pupilar difiere entre los grupos de edad, esta variable fue utilizada como covariable en un análisis de la covarianza (ANCOVA). Además, las pruebas t de Student fueron también utilizadas para determinar el efecto de la edad en el diámetro basal pupilar adaptado a la oscuridad.

Por otro lado, se diseñó el experimento II para estudiar y, en su caso, cuantificar, a través de una regresión lineal simple, el efecto del alcohol sobre el incremento del diámetro pupilar basal. En análisis preliminares se estudió mediante regresión lineal múltiple, no sólo el efecto del alcohol, sino también el efecto del sexo y la posible interacción de ambos, pero se descartó por presentar el factor sexo y la interacción, una falta clara de significación.

8 RESULTADOS

A continuación, se exponen los resultados, como en el resto de esta tesis doctoral, divididos en dos apartados. En primer lugar, los resultados relativos a las variaciones pupilares en función de la longitud de onda utilizada para la estimulación lumínica y en función de la edad, así como a las posibles interacciones entre ambos factores. En segundo lugar, se muestran los resultados del experimento II que describen las variaciones del diámetro pupilar basal como respuesta a diferentes estimulaciones lumínicas, según la ingesta progresiva de alcohol en una muestra de jóvenes.

Todos los resultados de esta tesis se presentarán con el formato de media y error estándar ($M \pm EE$).

8.1 EXPERIMENTO I: RESULTADOS

8.1.1 Características muestrales

La muestra total estudiada fue de 97 personas, compuesta por 57 mujeres, que supusieron un 58% de los participantes, y 40 hombres, que correspondieron a un 42% de la muestra. El intervalo de edad fue de 16 a 78 años. Las medidas realizadas ascendieron a un total de 388 evaluaciones, ya que los ojos de cada persona fueron sometidos a la estimulación con fuentes de luz de cuatro longitudes de onda diferentes (450 nm, 510 nm, 600 nm y luz blanca de 5600° K).

8.1.2 Diámetro pupilar basal mesópico: análisis

Con respecto al análisis de la variable diámetro pupilar mesópico, es útil recordar que el diámetro pupilar basal fue siempre registrado anteriormente a la estimulación luminosa. Por tanto, se trata de una variable no dependiente de la longitud de onda de la estimulación y, en consecuencia, no procede establecer o analizar la influencia del factor longitud de onda sobre dicha variable.

Los valores del diámetro pupilar basal, después de la adaptación a la oscuridad (10 minutos), para el total de la muestra, mostraron un promedio de $5,61 \pm 0,06$ mm. Es de destacar la importante desviación estándar, propia de la amplia horquilla de edad de la muestra ($DE = 1,09$). Esta elevada variabilidad pupilar puede también

apreciarse observando los valores mínimo y máximo obtenidos (3,12 mm y 8,47 mm), tal y como puede apreciarse en la figura 37.

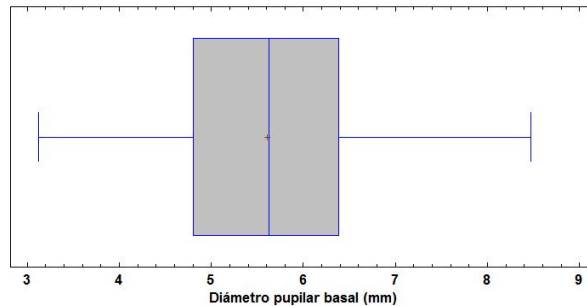


Figura 37. Media, mediana, rango intercuartil y recorrido hasta máximo y mínimo del diámetro pupilar basal mesópico medido en mm en el total de la muestra.

El diámetro pupilar basal en condiciones mesópicas registrado en las mujeres fue de $5,69 \pm 0,07$ mm y en hombres, $5,48 \pm 0,1$ mm. No han existido diferencias estadísticamente significativas con respecto al efecto del sexo en los valores pupilares. A efectos descriptivos, se añaden las dos gráficas de caja y bigotes divididas según sexo en la figura 38:

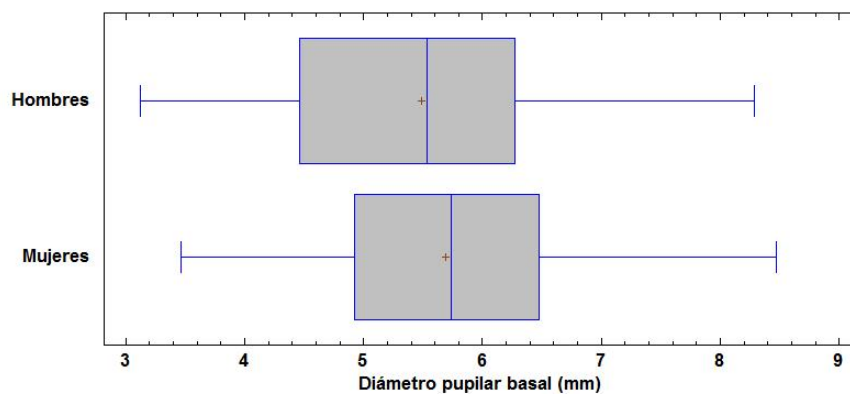


Figura 38. Media, mediana, rango intercuartil y recorrido hasta máximo y mínimo del diámetro pupilar basal mesópico medido en mm en el grupo de hombres y el grupo de mujeres de la muestra.

Con relación a la estadística descriptiva, y recordando que se dividió la muestra

en dos submuestras de menores y mayores de 45 años, se obtuvieron los siguientes valores para el diámetro pupilar basal: $5,86 \pm 0,06$ mm para voluntarios ≤ 45 años, y $4,89 \pm 0,10$ mm para aquellos participantes >46 años, respectivamente. En la figura 39, se muestra un gráfico de dispersión donde puede apreciarse la relación estrecha entre la variable edad y el diámetro pupilar basal:

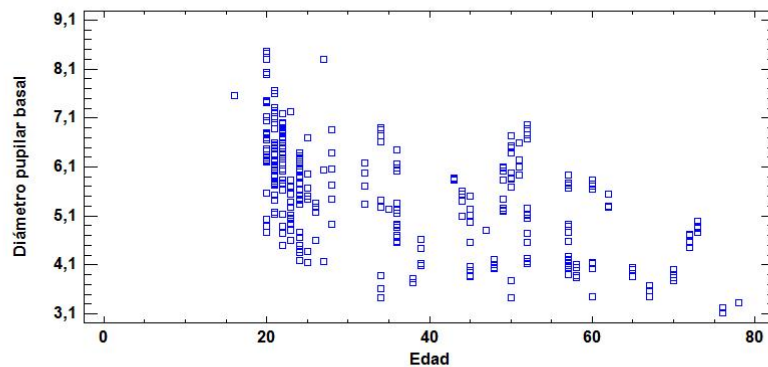


Figura 39. Gráfico de dispersión entre diámetro pupilar basal (mm) y edad cronológica (años).

Dada la influencia de la edad en esta variable pupilar, en la que se percibe menor diámetro pupilar basal a medida que avanza la edad, y a fin de establecer la significación estadística de la influencia de la edad en el diámetro pupilar basal, se llevó a cabo una prueba t de Student. Como se esperaba, los voluntarios ≤ 45 años mostraron un mayor diámetro pupilar basal con significación estadística ($t=8,17$; $p<0,0001$), en comparación con el de aquellas personas >45 años. Concretamente, los valores de menores o iguales de 45 años fueron de $5,86 \pm 0,06$ mm frente a los valores de $4,89 \pm 0,10$ mm para los voluntarios mayores de 45 años. En total, el descenso medio entre los dos grupos para el diámetro basal adaptado a condiciones mesópicas es muy cercano a 1 mm (0,97 mm).

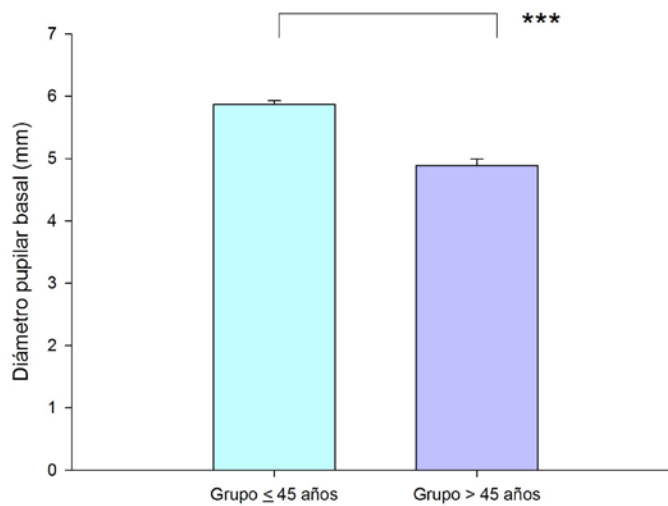


Figura 40. Comparación del diámetro pupilar basal (mm) entre mayores y menores de 45 años (diferencias estadísticamente significativas con un p -valor $< 0,0001$). Las barras de error representan el error estándar.

8.1.3 Efectos de los factores longitud de onda y edad y su interacción para las variables del reflejo pupilar mesópico (RPL) a estímulos luminosos

En primer lugar, se analizó la influencia de la longitud de onda, la edad de los individuos y la posible interacción de ambos factores sobre las tres variables de interés mediante un análisis de modelos lineales generalizados.

El análisis de la latencia (figura 41) reveló significación estadística para ambos factores (longitud de onda [$F(3,202)=4,36$; p -valor= $0,0053$] y edad [$F(1,139)=5,79$; p -valor= $0,0175$]), obteniéndose un p -valor muy cercano a la significación para el caso de la interacción de ambos factores [$F(3,202)=2,42$; p -valor= $0,06$]. Cabe señalar que la no significación de esta interacción podría deberse a falta de potencia estadística.

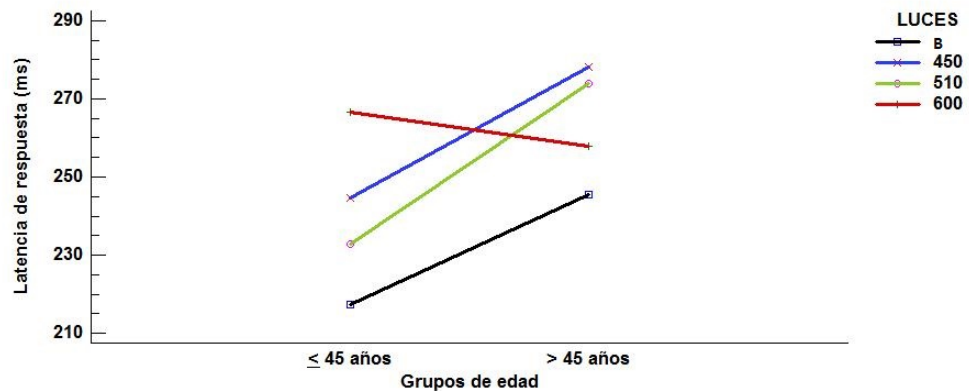


Figura 41. Interacción entre longitud de onda y grupos de edad para la latencia de respuesta. La imagen muestra gráficamente la existencia de una interacción a nivel muestral. No hay significación estadística.

Respecto al análisis global de la respuesta de amplitud (figura 42) no se obtuvo significación estadística para el factor edad, pero se obtuvo para la longitud de onda [$F(3,329)=10,93$; p valor $<0,0001$] y para la interacción entre longitud de onda y edad [$F(3,329)=4,38$; p -valor $=0,0048$].

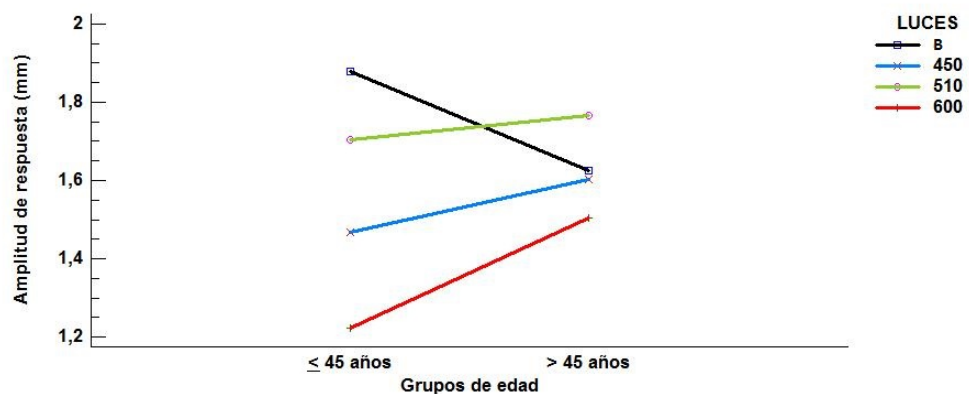


Figura 42. Interacción entre longitud de onda y grupos de edad para la amplitud de respuesta. La imagen muestra gráficamente la existencia de una interacción estadísticamente significativa (p -valor $< 0,0001$).

Finalmente, el análisis global de la velocidad media de constricción (figura 43) no mostró ningún tipo de significación estadística para ninguno de los factores analizados (edad y longitud de onda), ni para la interacción de estos, quedando lejos de la significación.

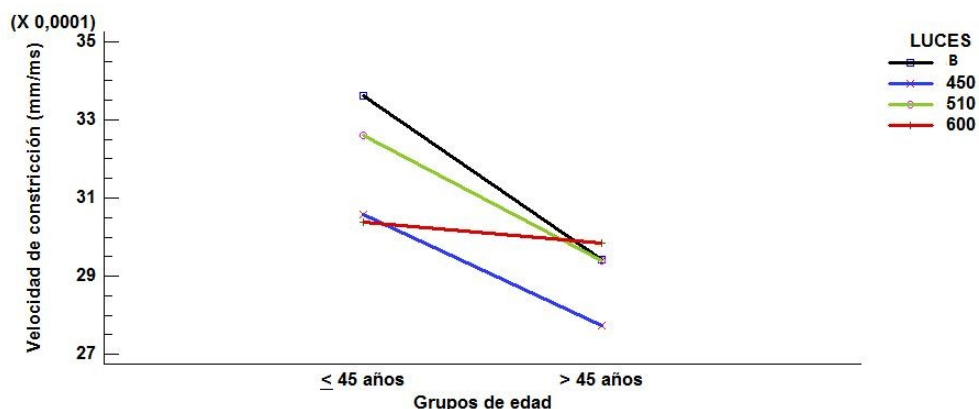


Figura 43. Interacción entre longitud de onda y grupos de edad para la velocidad media de constricción. La imagen muestra gráficamente la existencia de una interacción a nivel muestral. No hay significación estadística.

El resultado de las interacciones tras el análisis MLG mostró una diferencia estadísticamente significativa para el caso de la amplitud y una diferencia cercana a la significación para el caso caso de la latencia. Además, en las figuras 41, 42 y 43, puede apreciarse gráficamente que las tres variables de interés muestran interacción a nivel muestral.

Estos resultados y gráficas aconsejaron la realización de los análisis anova bifactorial con diseño de bloques completos aleatorios (RCBD), análisis de la covarianza (ANCOVA) y pruebas t de Student de dos muestras independientes, para las tres variables implicadas en el reflejo pupilar a la luz. Como ya se ha mencionado, estos tres análisis se realizaron con objeto de estudiar de modo independiente la influencia de la longitud de onda en los grupos de edad y la influencia de la edad en las diferentes condiciones de longitud de onda estimulante. A continuación, se expone el análisis de dichos efectos en bloques separados.

8.1.4 Efecto de la longitud de onda para las variables del RPL mesópico según los grupos de edad

En este apartado, se analiza el efecto de las distintas longitudes de onda del estímulo utilizado sobre las variables de interés del RPL mesópico para cada grupo de edad por separado. Se detallarán inicialmente los resultados del grupo de edad inferior o igual a 45 años y posteriormente los resultados del grupo de edad superior.

8.1.4.1 Efecto de la longitud de onda sobre la latencia de respuesta

Tras el análisis bifactorial de la varianza con diseño RCBD en relación a la respuesta de latencia en el grupo de menor edad, se constata que el tipo de luz influyó en la latencia inicial [$F(3,156)=9,99$; $p\text{-valor}<0,0001$]. En concreto, la luz blanca ($217 \pm 6,5$ ms) propiciaba menores tiempos de reacción que las luces rojas y azules ($266 \pm 6,6$ ms y $244 \pm 7,1$ ms, respectivamente). Las luces verdes también produjeron tiempos de reacción significativamente menores ($232 \pm 6,8$ ms) en comparación con la luz roja.

En resumen, tal y como se aprecia en la figura 46, el período de latencia para luces rojas (600 nm) y azules (450 nm), fue mayor, en contraste con períodos más cortos para la luz monocroma verde (510 nm) y la luz blanca en este colectivo. El tiempo de latencia de respuesta en condiciones mesópicas es más rápido para la luz que contiene todas las longitudes de onda, la luz blanca.

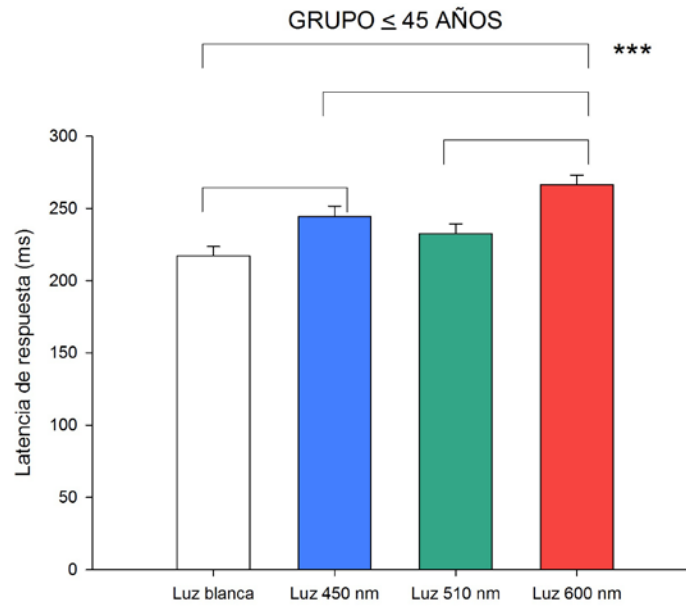


Figura 46. Latencia de respuesta en función de la longitud de onda del estímulo para menores o iguales de 45 años. Las barras de error representan el error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las barras señaladas por corchetes. P-valor < 0,0001.

Por otro lado, cuando se analizó el efecto de la longitud de onda en el grupo de mayores de 45 años, no se registraron diferencias estadísticamente significativas para ningún promedio de la variable latencia de respuesta (figura 47).

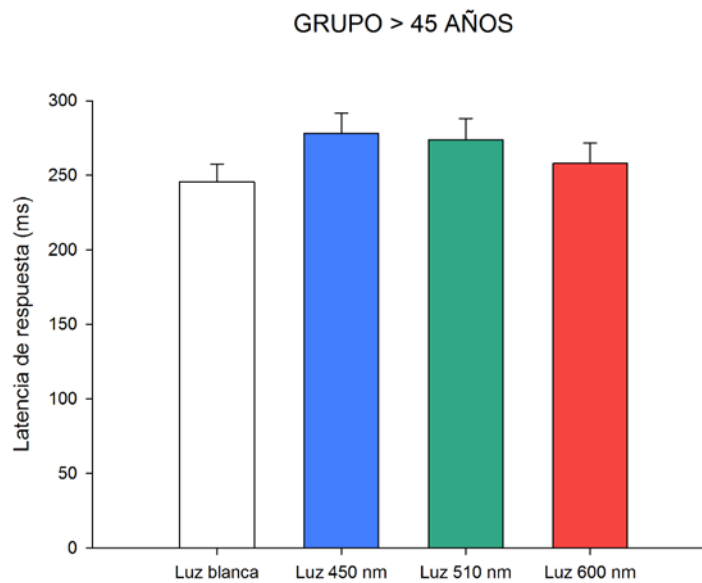


Figura 47. Latencia de respuesta en función de la longitud de onda del estímulo para mayores de 45 años. Las barras de error representan el error estándar. No existen diferencias estadísticamente significativas.

8.1.4.2 Efecto de la longitud de onda sobre la amplitud de respuesta

En relación al efecto de la longitud de onda sobre la amplitud de la respuesta pupilar, igualmente se llevó a cabo un análisis bifactorial con diseño RCBD, en el que se estudiaba la respuesta en los dos grupos de edad por separado.

En el grupo de los más jóvenes (≤ 45 años), el análisis efectuado sobre las amplitudes de respuesta pupilar, mostró una influencia significativa de la longitud de onda [$F(3,173)=92,84$; $p<0,0001$]. Tal y como puede apreciarse en la figura 48, las luces blanca y verde de 510 nm causaban amplitudes de respuesta mayores con significación estadística ($1,87 \pm 0,03$ mm y $1,62 \pm 0,03$ mm, respectivamente), mientras que la luz roja de 600 nm y la luz azul de 450 nm inducían respuestas de amplitud menores ($1,48 \pm 0,03$ mm y $1,14 \pm 0,03$ mm, respectivamente). En este grupo de edad todas las comparaciones 2 a 2 de la amplitud producida con diferentes longitudes de onda resultaron significativas.

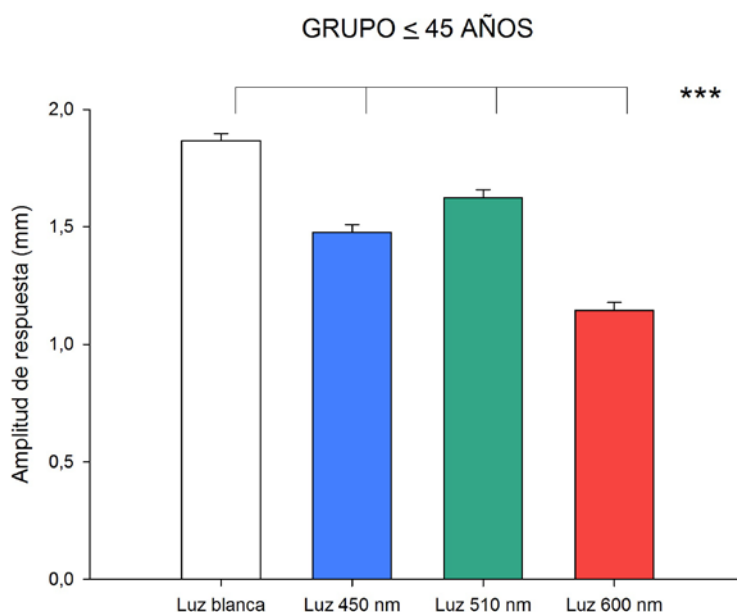


Figura 48. Amplitud de respuesta en función de la longitud de onda del estímulo para menores o iguales de 45 años. Las barras de error representan el error estándar. El p-valor es inferior a 0,0001.

En el grupo de mayor edad, las diferencias se producían básicamente para la luz de longitud de onda larga [$F(3,53)=9,85$; $p<0,0001$]. En este caso, la luz roja de 600 nm provocaba de forma estadísticamente significativa menores amplitudes ($1,20 \pm 0,05$ mm) que cualquier otra luz (ver figura 49). Además, con significación estadística,

la luz de longitud de onda media (luz verde) producía mayores amplitudes ($1,55 \pm 0,05$ mm) que la luz de longitud de onda cortas (luz azul) ($1,34 \pm 0,05$ mm). La luz blanca, en este caso, producía amplitudes de respuesta de $1,46 \pm 0,04$ mm.

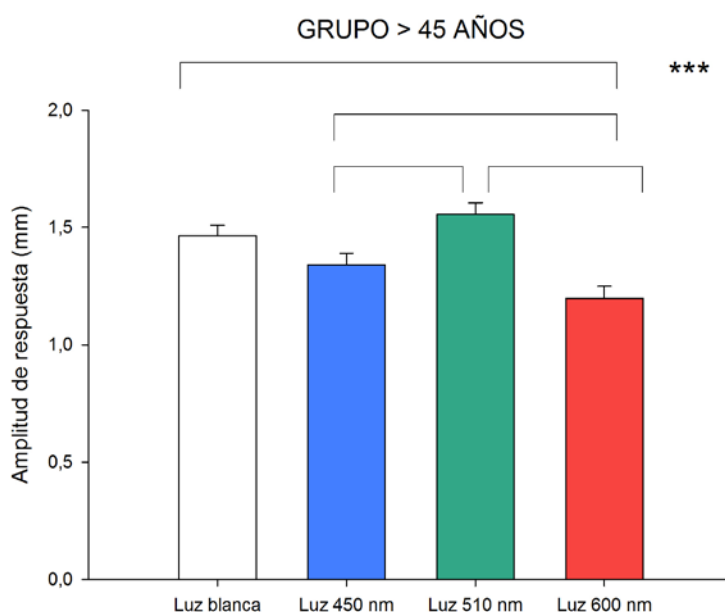


Figura 49. Amplitud de respuesta en función de la longitud de onda del estímulo para mayores de 45 años. Las barras de error representan el error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las barras señaladas por corchetes. El p-valor es inferior a 0,0001.

8.1.4.3 Efecto de la longitud de onda sobre la velocidad media de constricción

Con respecto a la velocidad de constricción analizando el efecto de la longitud de onda en los diferentes subgrupos de edad (figura 50 y 51), es de destacar que se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el grupo \leq de 45 años [$F(3,173)=2,90$; p-valor=0,0367], pero no se obtuvieron diferencias en el conjunto de participantes > 45 años.

En el caso del grupo de individuos más jóvenes, los valores de velocidad de constricción significativamente más altos fueron para las respuestas a la luz blanca ($3,4 \times 10^{-3} \pm 9,0 \times 10^{-5}$ mm/ms), en comparación con los valores de la luz azul de 450 nm ($3,0 \times 10^{-3} \pm 9,5 \times 10^{-5}$ mm/ms) y la luz roja de 600 nm ($3,0 \times 10^{-3} \pm 9,6 \times 10^{-5}$ mm/ms). La luz verde de 510 nm ($3,3 \times 10^{-3} \pm 9,8 \times 10^{-5}$ mm/ms) no se diferenciaba en el promedio de sus efectos sobre la velocidad de constricción con ninguna otra luz.

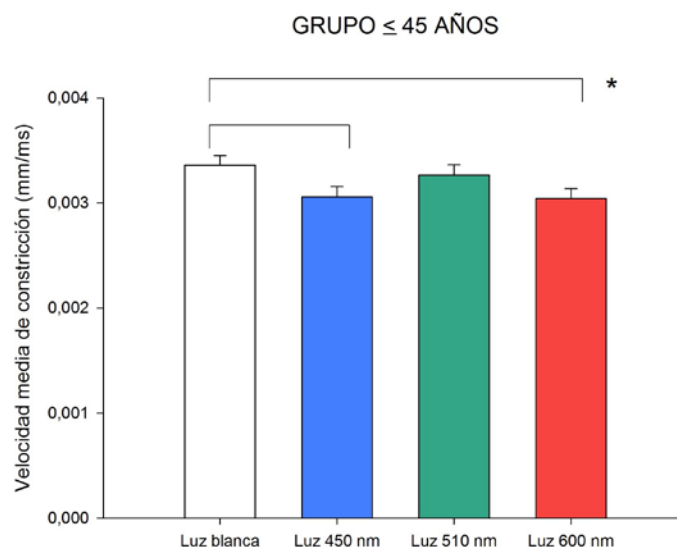


Figura 50. Velocidad de constricción media en función de la longitud de onda del estímulo para menores o iguales de 45 años. Las barras de error representan el error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las barras señaladas por corchetes. P-valor=0,0367.

Como se ha mencionado, cuando se analizaron las respuestas de velocidad de constricción en el grupo de mayor edad, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas según los distintos tipos de longitudes de onda utilizados para la estimulación.

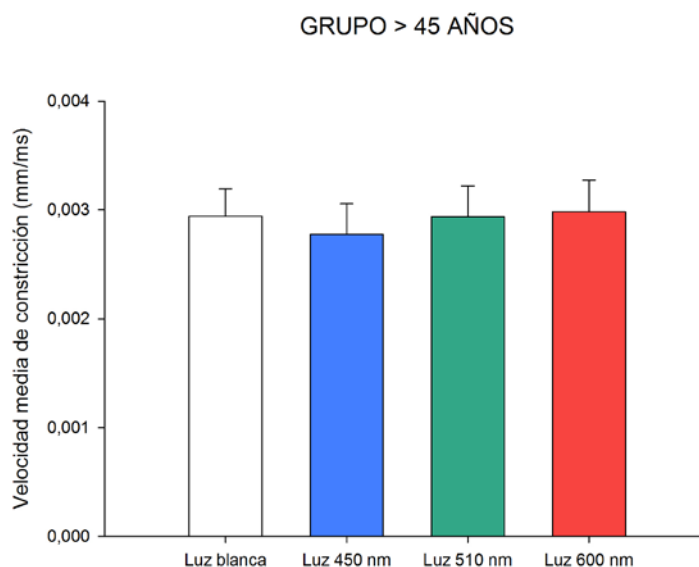


Figura 51. Velocidad de constricción media en función de la longitud de onda del estímulo para mayores de 45 años. Las barras de error representan el error estándar. No existen diferencias estadísticamente significativas.

8.1.5 Efecto de la edad sobre las variables del RPL mesópico según las distintas luces estimulantes

Como se ha mencionado en líneas anteriores, con objeto de identificar las diferencias existentes debidas a los efectos de la edad en cada condición luminosa, se ejecutaron pruebas t de Student en dos variables del reflejo pupilar a la luz (latencia y velocidad de constricción). En el caso de la amplitud de respuesta, y dado que el diámetro pupilar basal influye en las medidas de amplitud, se optó por realizar un análisis de la covarianza (ANCOVA). Los resultados se exponen a continuación:

8.1.5.1 Efecto de la edad sobre la latencia de respuesta

La comparación de las latencias a través de los tests t de Student (figura 52) dió lugar a diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de edad ($t = -2,55$; $p=0,0126$) en condiciones de estimulación con luz blanca, dándose tiempos más cortos en el grupo de los jóvenes (215 ± 7 ms) comparado con el grupo de mayor edad (252 ± 14 ms).

En el caso de la luz azul (450 nm), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según la edad, aunque la diferencia se quedó cerca del límite de la significación ($p\text{-valor} < 0,0636$), y el grupo ≤ 45 años marcó una respuesta más rápida (241 ± 8 ms) que la del grupo > 45 años (269 ± 12 ms). Igualmente con la luz verde (510 nm), las diferencias quedaron cercanas a la significación estadística ($p\text{-valor} = 0,1019$). De la misma manera, en este caso, el grupo ≤ 45 años tuvo un tiempo de reacción de menor duración (227 ± 7 ms) frente a una respuesta más tardía del grupo > 45 años (254 ± 17 ms).

Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de edad para los promedios de latencia de respuesta producidos por la luz roja de 600 nm. Las latencias de respuesta en el caso de la luz roja de 600 nm muestran valores más igualados que en el caso de las otras luces. Con la luz roja, el grupo ≤ 45 años registró 265 ± 7 ms de latencia de respuesta, mientras que el grupo > 45 años registró un promedio algo inferior, situándose en una respuesta de 255 ± 9 ms.

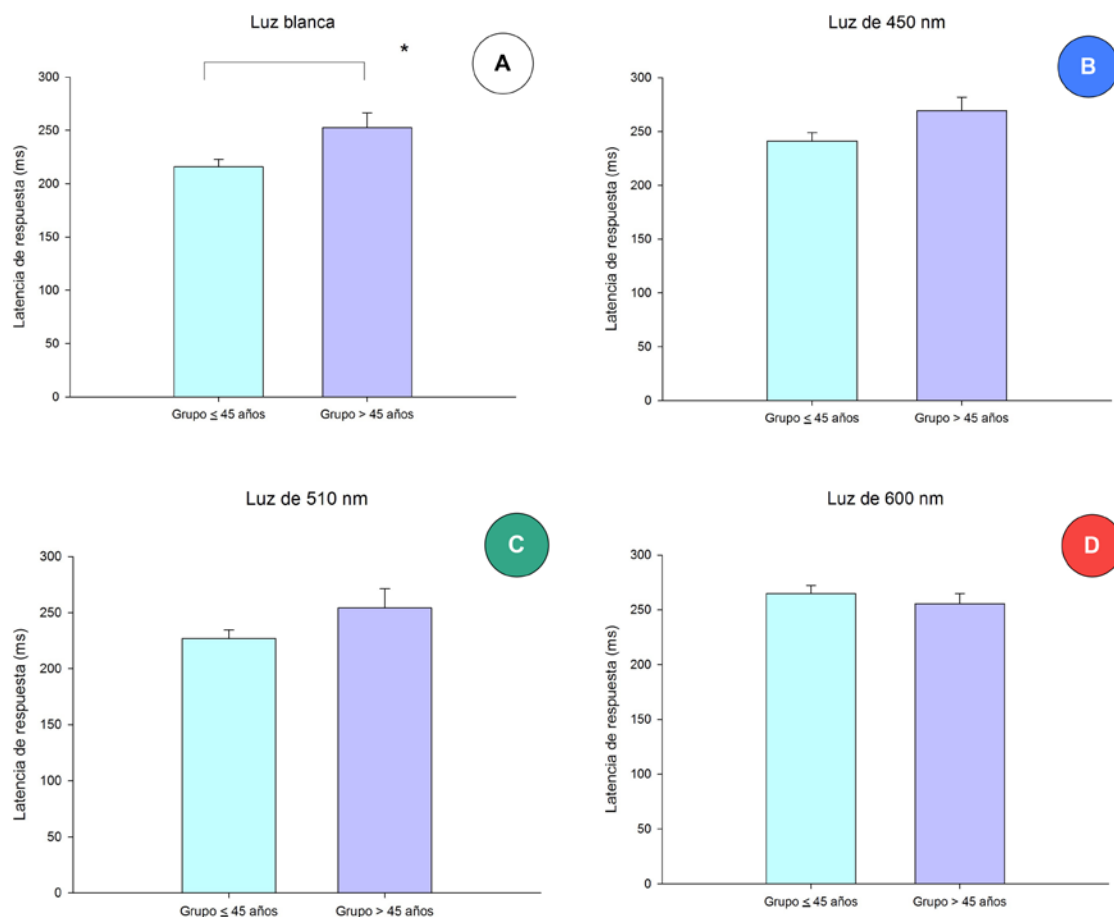


Figura 52 A, B, C y D. Respuestas de latencia según edades para cada una de las longitudes de onda. Las barras de error representan los errores estándar. (A) En lo que respecta a la luz blanca, se detecta una diferencia estadísticamente significativa con un p-valor de 0,0126, simbolizada por el asterisco. (B y C) En cuanto a la luz de 450 nm y la luz de 510 nm, las diferencias observadas son cercanas a la significación estadística (p-valor=0,06 y p-valor=0,10, respectivamente). (D) Para la luz roja de 600 nm no se presentan diferencias estadísticamente significativas.

8.1.5.2 Efecto de la edad sobre la amplitud de respuesta

La comparación de las amplitudes a través del ANCOVA (figura 53) mostró que para la luz blanca, el grupo ≤45 años obtuvo un valor promedio de amplitud de respuesta de $1,82 \pm 0,05$ mm y el grupo >45 años obtuvo un valor promedio de $1,69 \pm 0,10$ mm. Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Para la luz azul (450 nm) tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas, siendo los resultados del grupo ≤45 años de $1,51 \pm 0,06$ mm y los datos obtenidos del grupo >45 años de $1,53 \pm 0,1$ mm. A su vez, para la luz verde (510 nm) tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas, y el grupo ≤45 años obtuvo $1,69 \pm 0,04$ mm

y el grupo >45 años obtuvo $1,81 \pm 0,08$ mm. Por último, para la luz roja (600 nm), el grupo ≤ 45 años obtuvo una amplitud de respuesta de $1,25 \pm 0,05$ mm, mientras que en el grupo de >45 años se obtuvieron unos resultados de $1,46 \pm 0,1$ mm. Hay que destacar que en esta última comparación relativa a la luz roja, los resultados desprenden diferencias muy cercanas a la significación [$F(1,79)=3,51$; p-valor=0,0649].

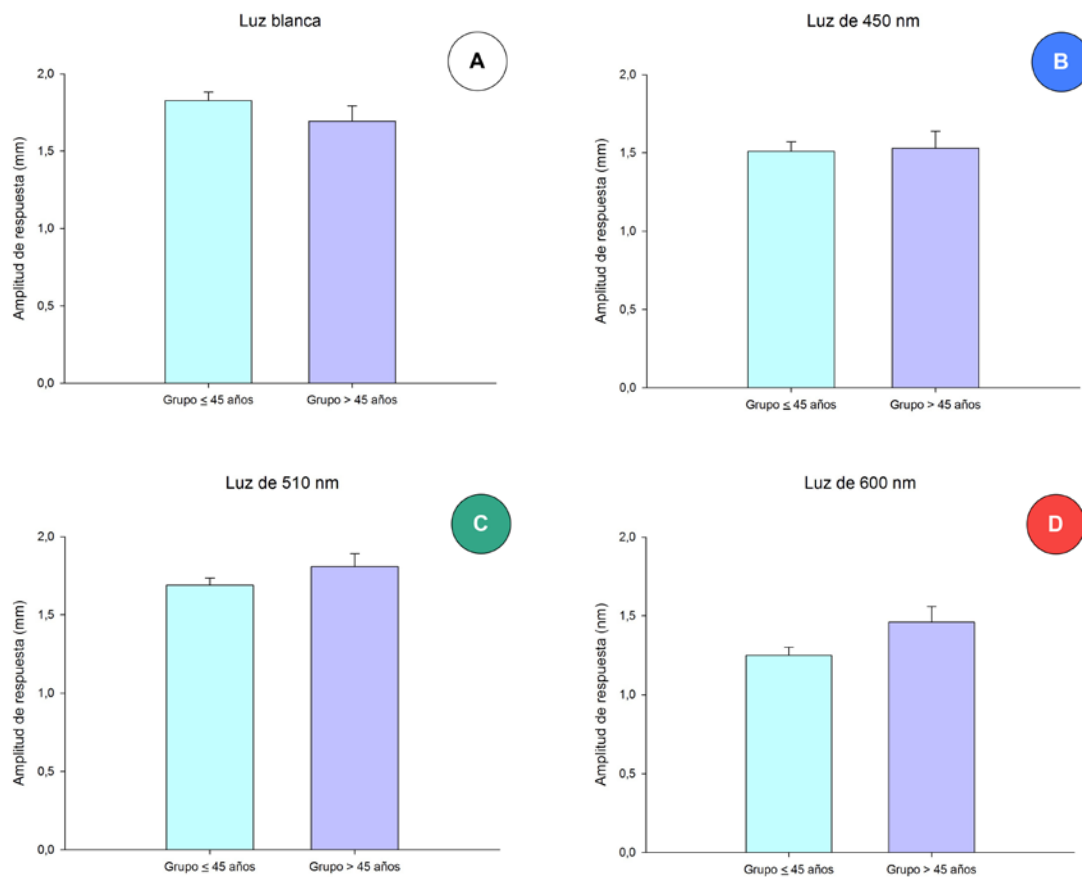


Figura 53 A, B, C y D. Respuestas de amplitud según las edades para cada longitud de onda. Las barras de error representan los errores estándar. No existe significación en ninguno de los casos. (D) En el caso de la luz roja de 600 nm, la amplitud de respuesta presenta diferencias cercanas a la significación estadística (p-valor=0,06).

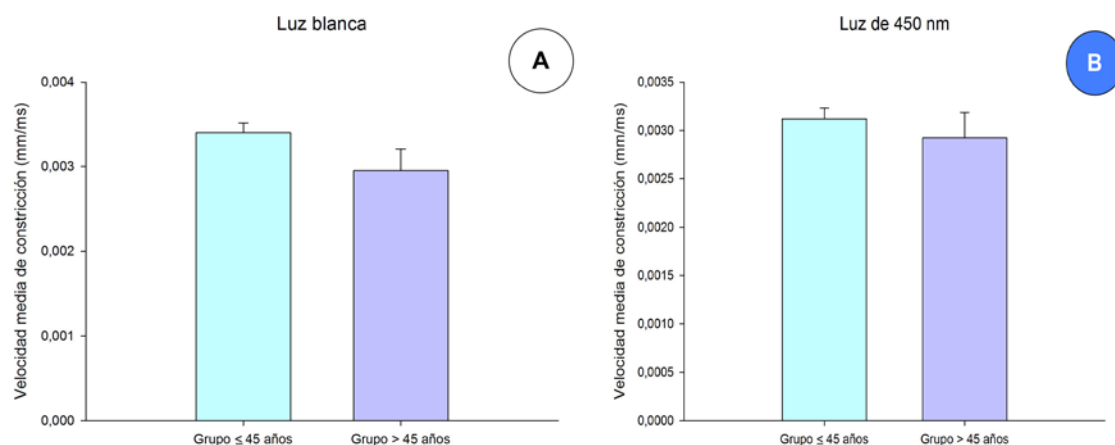
Como descripción de tendencias, resulta de interés resaltar que el promedio de las amplitudes de respuesta en el caso de la luz de 600 nm es mayor para el grupo de mayores de 45 años que para el grupo más joven, una tendencia no esperada. Igualmente, esta tendencia se observa también al comparar las respuestas de jóvenes y mayores a la luz azul de 450 nm y a la luz verde de 510 nm. Por el contrario, en el caso de la luz blanca, que aúna todas las longitudes de onda, el promedio del valor de amplitud es mayor para los jóvenes que para los mayores de 45 años.

8.1.5.3 Efecto de la edad sobre la velocidad media de constricción

La comparación de la velocidad media de constricción entre los grupos de edad dió lugar a diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de edad cuando intervenía la luz verde de 510 nm ($t=2,3$; $p\text{-valor}=0,0231$). En el grupo de menor edad se presentaron las velocidades más elevadas ($3,4 \times 10^{-3} \pm 9,9 \times 10^{-5}$ mm/ms) siendo superiores al promedio del grupo de mayor edad ($2,9 \times 10^{-3} \pm 2,6 \times 10^{-4}$ mm/ms) (figura 54).

Para la luz blanca, los promedios de la velocidad de constricción mostraron diferencias cercanas a la significación ($p\text{-valor}=0,0771$). El grupo ≤ 45 años mostró igualmente mayor velocidad ($3,4 \times 10^{-3} \pm 1,2 \times 10^{-4}$ mm/ms) que el grupo >45 años ($2,9 \times 10^{-3} \pm 2,6 \times 10^{-4}$ mm/ms).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios del grupo más joven ante la luz azul de 450 nm ($3,1 \times 10^{-3} \pm 1,1 \times 10^{-4}$ mm/ms) y el grupo de mayor edad ($2,9 \times 10^{-3} \pm 2,6 \times 10^{-4}$ mm/ms). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el caso de la luz roja de 600 nm, siendo en jóvenes los promedios de velocidad de $3,2 \times 10^{-3} \pm 1,2 \times 10^{-4}$ mm/ms y en mayores, de $3,1 \times 10^{-3} \pm 3,3 \times 10^{-4}$ mm/ms.



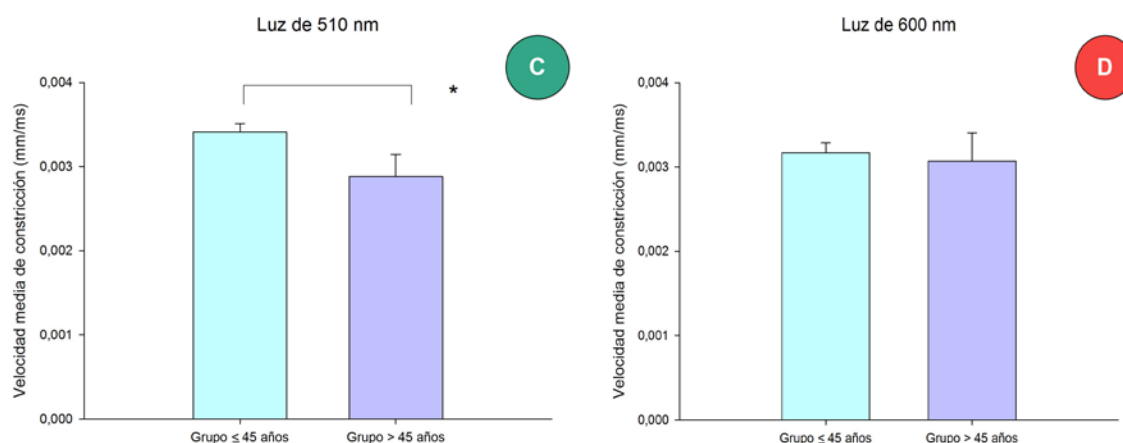


Figura 54 A, B, C y D. Respuestas de velocidad media de constricción según edades para cada una de las longitudes de onda. Las barras de error representan los errores estándar. (A) La luz blanca presenta diferencias cercanas a la significación estadística (p-valor=0,08). (C) La luz verde de 510 nm provoca diferencias estadísticamente significativas (p-valor=0,02), simbolizadas por el asterisco. (B y D) El análisis t de student sobre el resto de luces (450 nm y 600 nm) no indica diferencias estadísticamente significativas.

8.2 EXPERIMENTO II: RESULTADOS

8.2.1 Nivel de alcoholemia

En este experimento el nivel de alcoholemia medio en aire espirado fue de 0,49 mg/l para la última toma, sobrepasando claramente, ya en la toma 2, el nivel de alcohol legalmente permitido para conducir en España, tal y como puede apreciarse en la tabla 3.

Tabla 3: Medias y errores estándar de alcohol en aire espirado (mg/l) en cada toma.

	TOMA 1	TOMA 2	TOMA 3	TOMA 4
Alcohol (mg/l)	0,15 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,39 ± 0,03	0,49 ± 0,04

En la muestra utilizada para el estudio de la influencia del alcohol en la reacción pupilar a estímulos luminosos, participaron 12 hombres (63%) y 7 mujeres (37%) (figura 55). En el registro pupilométrico efectuado sin consumo de alcohol, las mujeres poseían de media un menor diámetro pupilar mesópico basal ($5,4 \pm 0,31$ mm) que los hombres ($6,2 \pm 0,30$ mm), tal y como se expone en la figura 56, sin suponer esto diferencias estadísticamente significativas.

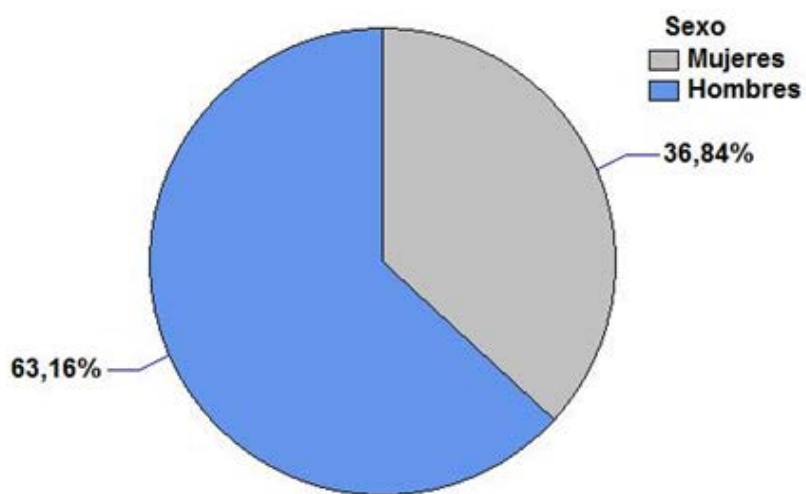


Figura 55. Distribución de la muestra según sexo.

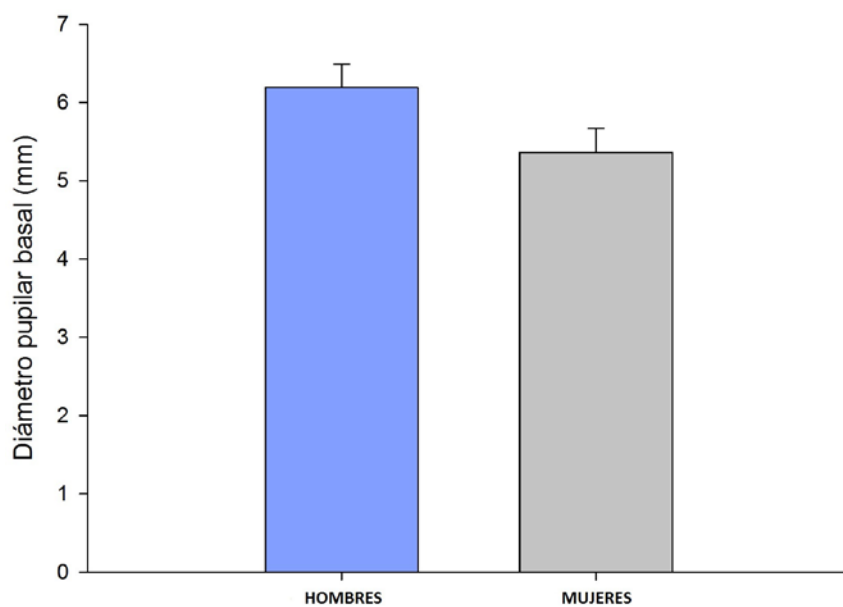


Figura 56. Diámetro pupilar basal (mm) según sexo en registro sin consumo de alcohol.
Las barras de error representan los errores estándar.

8.2.2 Influencia del consumo de alcohol en el incremento del diámetro pupilar basal

Desde la primera ingesta, y a lo largo de todas éstas, es significativo el aumento del diámetro pupilar basal mesópico de forma progresiva en función del consumo de alcohol. Sin embargo, un resultado más claro en este sentido se produce utilizando una nueva variable propuesta que es el incremento del diámetro basal (INC), que se calcula restando el valor del diámetro basal en la sesión sin alcohol, del diámetro basal obtenido en cada una de las tomas de alcohol. Como es lógico, este valor de incremento igualmente aumentaba a medida que lo hacía el consumo.

Por tanto, la relación entre diámetro basal y consumo de alcohol puede apreciarse con mayor claridad si se relaciona el incremento del diámetro basal pupilar y el número de toma de alcohol o, mejor aún, si se relaciona este incremento con la concentración de alcohol en aire espirado.

Por un lado, el aumento de diámetro basal tras la primera toma de alcohol, fue de $0,23 \pm 0,09$ mm, mientras que para la segunda, tercera y cuarta fueron, respectivamente, de $0,27 \pm 0,09$ mm, $0,36 \pm 0,09$ mm y $0,46 \pm 0,09$ mm. Es decir, el aumento medio del diámetro basal se dobla en la cuarta toma con respecto a aquel conseguido de media en la primera toma.

Por otro lado, el incremento del diámetro basal prácticamente se quintuplica cuando el individuo posee una concentración de alcohol en aire espirado mayor de $0,50$ mg/l, marcando $0,74 \pm 0,10$ mm, con respecto a los valores cuando la concentración de alcohol no supera el $0,24$ mg/l que es el máximo exigido en aire espirado para conducir, es decir, un índice $<0,24$ mg/l, siendo el aumento de diámetro pupilar basal mesópico de este experimento de $0,16 \pm 0,06$ mm. Tanto en los resultados como en la discusión de este experimento se va a utilizar, como límite para determinar el estado de embriaguez, el valor de $0,25$ mg/l que se encuentra en la legislación vigente en la normativa que rige la circulación de vehículos tanto a nivel español como a nivel europeo (Rec. de la Comisión 17 de enero de 2001).

Las figuras 57 y 58 expresan gráficamente la relación entre las variables previamente comentadas:

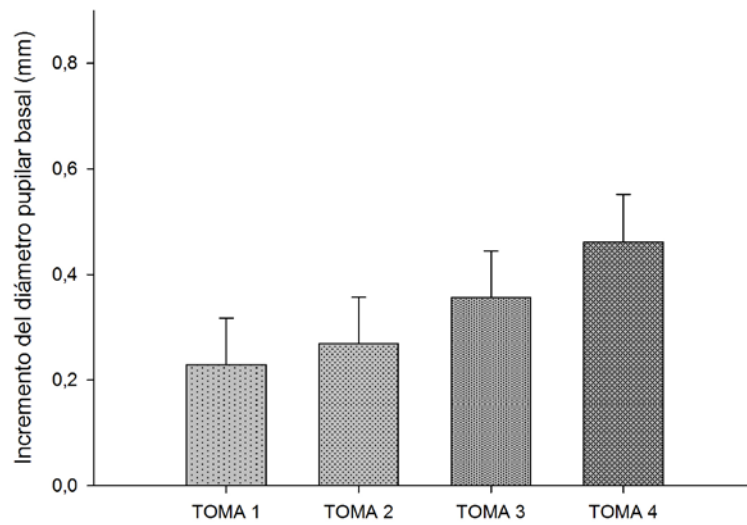


Figura 57. Incremento del diámetro basal mesópico (mm) según el número de toma de alcohol.

Cada barra corresponde a la secuencia de ingesta de alcohol. Se recuerda que cada toma consistía en la ingesta de 500 ml de cerveza (27,5 ml de alcohol etílico) durante 50 minutos. El consumo total corresponde a 110 ml de etanol. Se muestran barras de error correspondientes al error estándar de la media.

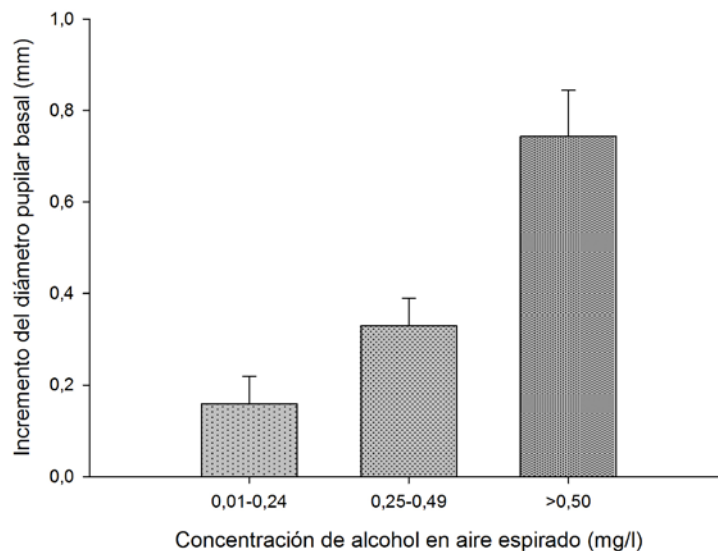


Figura 58. Incremento del diámetro basal mesópico (mm) según el nivel de concentración de alcohol en aire espirado (mg/l). Cada barra corresponde a un rango de concentración de alcohol en aire espirado. Se muestran barras de error correspondientes al error estándar de la media.

Para contrastar gráficamente una posible relación del incremento del diámetro pupilar con variables relacionadas con el alcohol consumido, se realizaron diversas gráficas de dispersión. De entre todas ellas, se seleccionó la gráfica entre las variables alcohol en aire espirado como variable explicativa y la variable incremento del diámetro pupilar basal (INC) como variable respuesta.

Se escogió la variable alcohol en aire espirado en preferencia al número de ingesta, pues la primera variable por sí misma, controla otro tipo de variables como pueden ser el índice de masa corporal, que podían haber supuesto variables de confusión para este estudio.

Por otro lado, se seleccionó el incremento de diámetro pupilar basal (valor de la diferencia) sobre el diámetro pupilar basal (valor absoluto) porque la primera anula la variabilidad interindividual de forma más adecuada. En este caso, se trató de una variable de distribución normal y, a través de su gráfico de dispersión, se apreció una posible relación lineal entre la concentración de alcohol en aire espirado y el incremento de diámetro pupilar basal (figura 59).

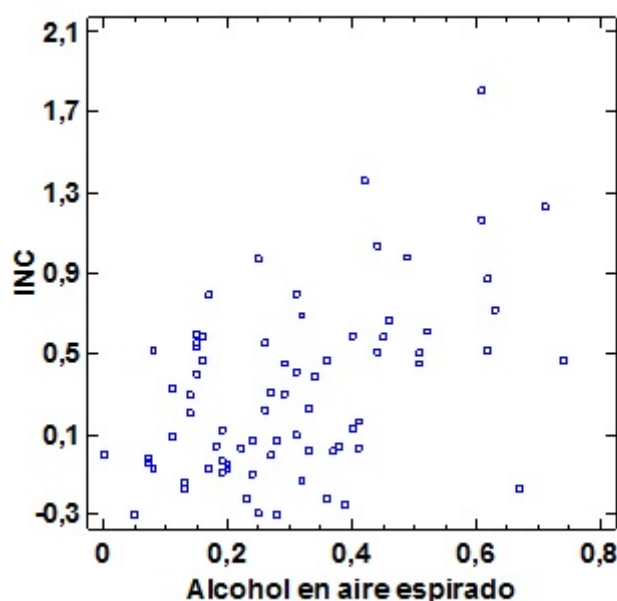


Figura 59. Gráfico de dispersión entre incremento del diámetro pupilar basal (mm) y alcohol en aire espirado (mg/l).

Con objeto de cuantificar la relación entre ambas medidas, incremento del diámetro pupilar basal y concentración de alcohol en aire espirado, se realizó un análisis de la regresión utilizando como variable dependiente el incremento del

diámetro pupilar basal en mm (INC) y como variable independiente o explicativa, la concentración de alcohol en aire espirado (mg/l). Para cuantificar dicha relación, se calculó la regresión lineal de las dos variables expuestas. La ecuación del modelo lineal que describe dicha relación es:

$$INC = -0,0281743 + 1,1449 * \text{Alcohol en aire espirado}$$

Cuyo significado es el siguiente: por cada unidad que aumenta la alcoholemia, la estimación del incremento del valor medio de la variable dependiente incremento del diámetro pupilar basal es de 1,1449 unidades.

El modelo de regresión resultó altamente significativo [$F(1,90)=39,95$; $p\text{-valor}<0,0001$], afirmándose así la existencia de una relación de dependencia lineal entre ambas variables. El coeficiente de correlación ($r=0,55$) indica que se trata de una relación moderadamente fuerte entre variables. Además, el coeficiente de determinación (R cuadrado) fue de 30,74%, lo que supone que un 30,74% de la variabilidad de la variable incremento del diámetro pupilar basal se puede explicar a partir de la variable de alcoholemia.

El modelo gráfico de regresión lineal se expone en la figura 60:

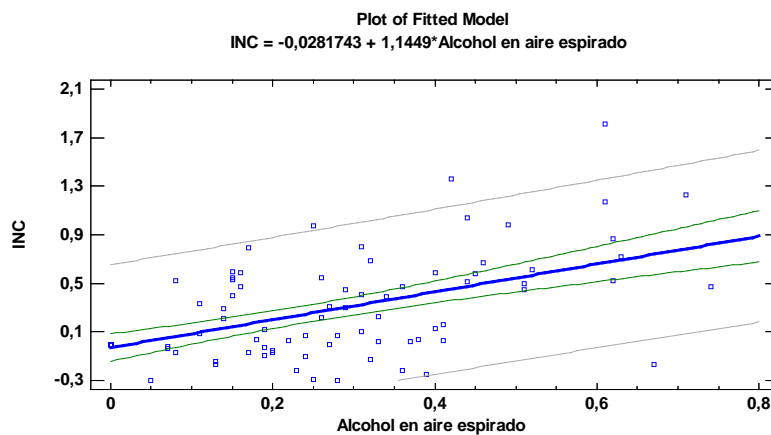


Figura 60. Recta de regresión lineal entre incremento del diámetro pupilar basal en mm (IDB) y alcohol en aire espirado, medido en mg/l.

En otros análisis previos se trató de evaluar la introducción del efecto del sexo en una regresión lineal múltiple, analizando igualmente la interacción entre alcohol y sexo, pero los resultados no fueron estadísticamente significativos.

9 DISCUSIÓN

En la presente tesis se han expuesto los resultados del reflejo pupilar a la luz (RPL) en condiciones mesópicas, basado en un mecanismo no formador de imágenes y producido por la estimulación ocular de cuatro fuentes de luz de diferentes longitudes de onda, analizándolos en una amplia muestra de personas de diferentes edades. La longitud de onda del espectro electromagnético de la luz influye de forma determinante en la visión producida por el procesamiento de la señal visual.

A continuación, se discuten los resultados y se comparan con otros estudios recientes. De este modo, la sección de Discusión, se divide a partir de este punto, en tres apartados: los dos primeros abordan el experimento I, y el experimento II, respectivamente. El último epígrafe de esta discusión está dedicado a las implicaciones futuras que se derivan de los resultados y discusión de ambos experimentos.

9.1 Experimento I. Variaciones del RPL mesópico debidas a la longitud de onda del estímulo luminoso y a la edad

En el experimento I, se realizaron cuatro análisis estadísticos. Se comienza esta discusión con los datos relativos al diámetro pupilar basal y su relación con la edad. Los resultados demostraron un importante efecto de la edad sobre el diámetro pupilar basal, reduciéndose el tamaño pupilar en función de la edad.

Con relación al diámetro pupilar basal, después de la adaptación a la oscuridad, los resultados de esta tesis doctoral son semejantes a los encontrados por otros autores en el mismo rango de edad (Bitsios, Prettyman, et al., 1996; Bradley et al., 2011). Concretamente, se recuerda que el valor medio de la muestra total fue de $5,61 \pm 0,06$ mm para el total de la muestra con una variabilidad muy amplia entre 3,12 mm y 8,47 mm.

Por otro lado, se quiere aclarar que, debido al alto intervalo de edad de la muestra, pareció conveniente dividir al grupo en dos grandes bloques. Es de señalar que la edad de corte del experimento I se estableció a los 45 años debido al incremento potencial de cambios en el cristalino que suelen manifestarse en esta década, y a la creciente opacidad de los medios (formación de cataratas), datos que

figuran en la literatura reciente (Kaur et al., 2012; Petrash, 2013; Prokofyeva et al., 2013) y que pueden suponer una distorsión en la fisiología estándar del RPL.

En esencia, el diámetro pupilar basal en ambiente mesópico es, básicamente, un componente estático de la respuesta pupilar, regido por los núcleos EW. Estos núcleos van modulando su respuesta dependiendo de proyecciones inhibitorias de ciertas áreas corticales (primarias y secundarias en un mecanismo de feedback), que les conducen a reducir la fuerza de sus impulsos eferentes pupiloconstrictores hacia el músculo esfínter del iris provocando, por tanto, pupilas de tamaño medio en lugar de pupilas continuamente mióticas, cuando el ser vivo se encuentra en reposo (Mukherjee y Vernino, 2007). Este proceso se pone en evidencia en el grupo de menores de 45 años, ya que los resultados recogidos en esta tesis informan de una reducción marcada del tamaño pupilar con la edad en ambiente mesópico, denominada miosis senil.

Una posible explicación a este fenómeno es que el proceso de inhibición procedente de las áreas corticales superiores que realizan feedback, se ve deteriorado o interrumpido con la edad, y que dicho déficit de input cortical inhibitorio al núcleo EW, explica la miosis encontrada en la senectud. De hecho, importantes estudios indican un declive significativo en la función de la corteza visual de macacos de avanzada edad (Fu et al., 2013; Yu et al., 2006). Sería interesante investigar si en humanos se confirman estos hechos y comprobar si las conexiones a los núcleos pretectales o a otros núcleos importantes como el LC-NA se debilitan con la edad. Un descubrimiento de esta índole podría apuntalar la hipótesis de que esta desconexión entre núcleos es la responsable de la miosis senil.

El segundo análisis se realizó a nivel global, es decir, considerando la edad, la longitud de onda y su interacción, con pupilometría dinámica, y se evidenció la influencia de la longitud de onda en algunas variables del RPL como son la latencia y la amplitud de respuesta. En la variable latencia se determinó igualmente la influencia del factor edad. Por último, la interacción entre ambos factores fue significativa para la amplitud de respuesta y, además, se pudo inferir de forma gráfica este mismo fenómeno tanto para la latencia de respuesta como para la velocidad media de constricción. Cabe recordar que, en el reflejo pupilar, el movimiento está inducido, en primer lugar, por un elemento mecánico, el músculo del iris, que resulta ser más dinámico en ojos con ángulos de cámara anterior abiertos que en aquellos con ángulos estrechos (Leung et al., 2007); y, en segundo lugar, por un elemento neural con actividad relativa de las fibras nerviosas que excitan los músculos pupilares, y con actividad espontánea del sistema nervioso central (Privitera y Stark, 2006).

Los resultados del análisis global, sugirieron el desarrollo de dos análisis estadísticos posteriores. En el tercer análisis, que consistió en un estudio comparativo realizado para evaluar el efecto de la longitud de onda en los dos grupos de edad, se pudo afirmar que, en el grupo de menor edad (≤ 45 años), para la amplitud de respuesta del RPL, la estimulación con todas las luces producía efectos diferentes de forma estadísticamente significativa. En el caso de la latencia del RPL, las diferencias eran evidentes en respuesta a la luz roja, que causaba mayores tiempos de latencia con respecto al resto de luces. Además, en respuesta a la luz blanca, la latencia del RPL fue menor en comparación con los resultados obtenidos con la estimulación de la luz azul de 450 nm. Por su parte, en el caso de la velocidad media de constricción del RPL, la luz blanca produjo mayores velocidades de respuesta pupilar con respecto a las obtenidas por la luz azul de 450 nm y por la luz roja de 600 nm. Al analizar los resultados en el grupo de mayor edad (>45 años) se constata, en cambio, que los valores obtenidos como respuesta a la estimulación con las diferentes luces, se igualaron de modo general, no encontrándose diferencias en las respuestas pupilares a la estimulación con distintas luces en ninguna de las variables dinámicas estudiadas, exceptuando el caso de la amplitud, en el que la luz roja de 600 nm provocó respuestas de menor magnitud que cualquier otra luz; y la luz verde de 510 nm dio lugar a mayores amplitudes que la luz azul de 450 nm.

Existen estudios preliminares que han explorado la influencia del color del estímulo en la respuesta pupilar, lo que abrió nuevas posibilidades de trabajo en este sentido (Tsujimura, Wolffsohn, y Gilmartin, 2001). Concretamente, estos investigadores obtuvieron una respuesta pupilar más amplia, con mayor latencia y más sostenida, ante estímulos de rejillas isoiluminantes de diferentes colores en comparación con lo que ocurría ante estímulos isocromáticos de diferentes luminancias. Esta respuesta diferenciada al color sugirió una implicación directa o indirecta de la vía parvocelular en el sistema pupilar.

Bajo estas premisas, en el diseño del experimento I se propuso un ensayo clínico sobre RPL con una amplia muestra de 97 adultos voluntarios en el que se incluyera la estimulación con luces de diferente longitud de onda, cuyos resultados se consideran una interesante aportación de la presente tesis doctoral. Concretamente, para conocer la respuesta del RPL a la banda de las longitudes de onda corta, se eligió una luz azul de 450 nm; para representar el comportamiento ante las longitudes de onda media, se seleccionó una luz de 510 nm; y, por último, se utilizó una luz de 600 nm como representativa de la banda de longitudes de onda larga. Esta variedad en la estimulación ha permitido obtener una mayor gama de resultados que pueden

permitir analizar la participación de cada uno de los tipos de fotorreceptores implicados en el reflejo pupilar a la luz.

En este sentido, es conveniente reiterar que la investigación con pupilometría en grandes poblaciones, como la que la presente tesis expone, ha sido llevada a cabo hasta la actualidad exclusivamente usando como estímulo la luz blanca (Fotiou et al., 2007). En general, estos y otros estudios han concluido que, con este tipo de estimulación, las latencias menores se asocian con respuestas de amplitud elevadas en el RPL (Bergamin y Kardon, 2003; Ellis, 1981; Fotiou et al., 2007). Es decir, estas dos variables, se asocian de manera inversa con la luz blanca. Nuestros resultados son acordes con los resultados obtenidos por los autores precedentes e incluso van más allá, ya que se ha demostrado que la estimulación con luz verde (510 nm) provocó en jóvenes y en mayores, valores más elevados de amplitud que los resultados obtenidos por la estimulación por luces azules (450 nm) y luces rojas (610 nm). Además, los tiempos de latencia de respuesta para la estimulación de 510 nm fueron más cortos con respecto a las luces rojas en jóvenes. Estos resultados refuerzan los encontrados en investigaciones de muestras amplias realizadas hasta ahora corroborando, no sólo la intensidad y sensibilidad del sistema a la luz blanca (respuesta intensa y rapidez de reacción), sino también su primacía sobre las demás luces, y la importancia añadida de la luz verde de 510 nm, en cuanto a la influencia sobre respuestas más intensas del RPL.

Estos hallazgos de diferenciación de la respuesta en función de la longitud de onda de la luz estimulante se explican por la sensibilidad espectral del sistema pupilar que, al igual que la sensibilidad visual en condiciones mesópicas, prioriza la respuesta a longitudes de onda próxima a 500 nm. De tal manera, la luz blanca, que contiene todas las longitudes de onda del espectro, provoca respuestas de mayor intensidad y rapidez. Asimismo, la luz de 510 nm coincide con la región de mayor sensibilidad espectral pupilar en condiciones mesópicas, fenómeno ya descrito desde 1820 como efecto Purkinje, lo que ratifica la mayor sensibilidad pupilar a luces verdes en condiciones mesópicas observada en esta investigación (Stockman y Sharpe, 2006). Es más, los resultados de mayor respuesta a la luz de 510 nm frente al resto de luces monocromáticas, otorgan validez a la metodología e incluso a la selección de la muestra, por demostrar que está compuesta por sujetos sanos con integridad visual anatómica y funcional, acorde con los criterios de inclusión establecidos.

En contraste con el protagonismo de la luz verde, se aprecia en los resultados del presente estudio una menor sensibilidad del sistema pupilar particularmente a las longitudes de onda corta y larga en condiciones mesópicas. Los resultados de esta

tesis doctoral ratifican con una amplia muestra el trabajo realizado por Adrian con un único sujeto experimental en varios niveles de iluminación ambiente (Adrian, 2003). Para las longitudes de onda corta, la menor sensibilidad podría entenderse en base a la demostrada menor participación de los conos S (sensibles a longitudes de onda corta) en ambientes fotópicos (Verdon y Adams, 1987). Igualmente, el propio efecto Purkinje ya comentado, en el que se produce, en condiciones mesópicas, un desplazamiento de la sensibilidad espectral del sistema visual hacia longitudes de onda media-corta, podría ser la explicación de la reducida sensibilidad pupilar demostrada para las longitudes de onda larga.

Además, varios estudios con muestras reducidas y pacientes con retinopatía han reportado mayor amplitud de constricción a luz azul comparada con la constricción producida ante luz roja fotópicamente equivalente (Herbst, Sander, Milea, Lund-Andersen, y Kawasaki, 2011; Léon et al., 2012). Este hallazgo está en línea con los resultados de esta tesis doctoral, que muestran que, en condiciones mesópicas, en los dos subgrupos de edad, las longitudes de onda corta siempre causaron mayor constricción que las longitudes de onda larga.

En línea con el párrafo anterior y con relación al mecanismo de acción que en el sistema visual provoca la estimulación de las longitudes de onda corta, un reciente hallazgo de gran trascendencia ha sido el descubrimiento de las células ganglionares melanopsínicas (CGRm) en la retina (Dacey et al., 2005; Hattar et al., 2002). Recientes estudios han puesto de manifiesto la importancia de incluir estimulación cromática en la metodología del análisis del proceso visual y no visual, dada su especial sensibilidad a luces de longitudes de onda corta (Gamlin et al., 2007; Kankipati et al., 2010).

Concretamente, la longitud de onda corta seleccionada para este estudio (luz de 450 nm), según la bibliografía, es altamente efectiva para la respuesta de las CGRm humanas. Existe controversia con relación a la longitud de onda más efectiva; algunos estudios han estimado que, con luces de 100 cd/m^2 , este tipo de células retinianas fotorreceptoras, tienen su pico de sensibilidad en 470 nm (Ishikawa, Onodera, Asakawa, Nakadomari, y Shimizu, 2012). Otros estudios marcan el pico de máxima sensibilidad en 480 nm (Gamlin et al., 2007; Lucas, Douglas, y Foster, 2001). Igualmente, se ha demostrado que estas mismas células melanopsínicas participan plenamente en la respuesta del RPL (Berson, 2003; Hatori y Panda, 2010; Provencio et al., 2000; Schmidt et al., 2011) y que son capaces de responder tras la absorción de un único fotón (Do et al., 2009). Por todo ello, la luz azul monocromática (380nm-

490nm) es frecuentemente utilizada para medir la función de las CGRm (Herbst et al., 2012).

Por su parte, en el estudio del efecto de la edad en las respuestas a las diferentes luces estimulantes, se destacan los siguientes resultados. En relación a la latencia y exclusivamente con estimulación de luz blanca, se demuestra una más rápida respuesta en el grupo de menores o iguales a 45 años que en el grupo de mayores. Estos resultados, reflejan un defecto funcional en una de las variables del RPL en función de la edad, observado igualmente en otros experimentos exclusivamente realizados con luz estimulante blanca (Bitsios, Prettyman, et al., 1996; Fotiou et al., 2007). Aunque se intuía este hecho debido a la mayor rapidez de respuesta en los procesos mecánicos, bioquímicos y neuronales en los jóvenes, hasta este momento no se había demostrado este fenómeno. Ésta demostración es una aportación importante de esta tesis doctoral.

Con relación al efecto de la edad en las respuestas de amplitud, no se encontraron diferencias significativas para las estimulaciones con fuentes de diferente longitud de onda. Estos resultados difieren de lo esperado en el supuesto de que en el diseño de análisis de datos no se hubiera considerado el efecto de la edad que, a su vez, como es sabido, está relacionado con el diámetro pupilar basal. Así pues, en la comparación entre los dos grupos de edad, los menores de 45 años no mostraron mayores promedios de amplitud de respuesta para ninguna longitud de onda con el diámetro pupilar basal como covariable.

Por último, para la variable velocidad media de constricción, sólo con la luz verde de 510 nm se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Para esta luz, el grupo ≤ 45 años lograba medidas mayores de velocidad pupilar que el grupo de >45 años. La luz blanca también tuvo resultados en el mismo sentido, aunque sus diferencias entre grupos se quedaron en el límite de la significación. Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Fotiou y sus colaboradores (Fotiou et al., 2007).

Como ya se ha mencionado, la hipótesis de la inhibición central parece dar sentido al menor tamaño del diámetro pupilar basal para el grupo de mayor edad, e igualmente, en cuanto a las variables del RPL, la respuesta a los menores valores de latencia y velocidad, en este grupo, ante ciertas longitudes de onda, se encontraría relacionada con dicha hipótesis. Por un lado, existe amplia evidencia de que la latencia y la velocidad media de constricción del RPL son debidas, casi exclusivamente, a una activación parasimpática (Capão Filipe et al., 2003; Heller et al., 1990). Aunque un déficit propiamente dicho en esta función no debe desestimarse con la aparición del

envejecimiento, es también posible que los resultados aquí analizados sobre ambas variables de respuesta sean una manifestación, tal como se menciona en párrafos anteriores, de una anormal participación simpática debida al propio proceso de envejecimiento, que provoca un desequilibrio con respuestas del RPL reducidas en la vejez. Este desequilibrio tendría lugar dado que el diámetro de partida es menor en estos casos (miosis senil por influencia de la falta de inhibición central simpática) y, por tanto, los valores del reflejo pupilar, se verían consecuentemente reducidos. En individuos jóvenes, ante el mismo estímulo luminoso, se conservaría, en cambio, la inhibición simpática de tipo central sobre los núcleos EW, de tal manera que finalmente no se producirían pupilas basales mióticas de partida, y los valores pupilares típicamente parasimpáticos del RPL serían más marcados (Barbur, 2004).

Además, como posible explicación adicional al promedio de latencia mayor en el caso de las luces blancas por parte de los mayores de 45 años en comparación con los menores, se contempla la posibilidad de que ésta sea debida al mayor filtrado de longitudes de onda corta a medida que envejece el cristalino (Delori, Goger, y Dorey, 2001). Esta misma hipótesis se ve apoyada por el hecho de que las respuestas de latencia ante luz azul, también obtiene diferencias cercanas a la significación en su comparación entre grupos de edad.

Del mismo modo, el envejecimiento parece perjudicar la respuesta de velocidad del sistema pupilar ante la luz de longitudes de onda media. La clara sensibilidad del sistema antes de los 45 años hace pensar que el sistema preserva respuestas con sentido biológico (dada la sensibilidad espectral en ambientes mesópicos) y las prioriza frente a respuestas a longitudes de onda largas o cortas, con un menor significado biológico, justo hasta un determinado momento del ciclo vital. Más allá de la edad de los 45 años, esta sensibilidad disminuye, y las respuestas ante longitudes de onda medias no se diferencian de la respuesta al resto de las luces evaluadas, tal y como reflejan los resultados relativos al efecto de la longitud de onda en el subgrupo de mayores de 45 años.

Es de destacar las nulas diferencias de promedios de amplitud de respuesta entre jóvenes y mayores para la luz azul y verde, que confirman los resultados de otros estudios recientes sobre la estabilidad pupilar a exposiciones de estas luces monocromáticas en función de la edad (Daneault et al., 2012). Estos autores postulan que, a diferencia de otras funciones no visuales, la sensibilidad a la luz del diámetro pupilar en constricción permanece relativamente intacta y no es profundamente afectada por la edad.

Sin embargo, y para finalizar la discusión del análisis estadístico de resultados, se quiere hacer constar que otros estudios de interés han encontrado una tendencia hacia menores valores de amplitud para la luz blanca a medida que avanza la edad, (Fotiou et al., 2007), a diferencia de los valores encontrados en la presente tesis. Este hecho puede ser debido a que los anteriores investigadores no han realizado el análisis estadístico considerando como covariable de la amplitud, el diámetro pupilar basal, que disminuye con la edad; una relación que se ha tenido en cuenta en el análisis estadístico de la presente tesis.

En la discusión de esta tesis es oportuno dedicar unos párrafos a la metodología utilizada. La pupilometría ha valorado en el ser humano la apertura pupilar, comprobando que ésta cambia en razón de variables muy diversas como son las variaciones en la intensidad del input visual (Wyatt y Musselman, 1981), las variaciones en la acomodación (Kasthurirangan y Glasser, 2005) e incluso las variaciones en función de elementos no visuales, como son algunos procesos mentales relacionados con la atención que concurren en paralelo a la percepción visual (Van Der Meer et al., 2010).

Dada la actual simplicidad del proceso y la no invasibilidad de la técnica, actualmente, una de las metas más prometedoras de la pupilometría es la de detectar déficits en diversos parámetros pupilares como una señal temprana de ciertos trastornos patológicos leves o graves. De esta manera, las variables pupilares estáticas y dinámicas podrían utilizarse como predictores oculares no invasivos de la integridad del sistema nervioso autónomo cefálico (Bremner, 2009), un objetivo que se podría desprender a partir de los resultados de la presente tesis.

9.2 Experimento II. Variaciones del incremento del diámetro pupilar basal mesópico según consumo progresivo de alcohol

En el experimento II, en el que se realizan medidas repetidas del diámetro pupilar basal mesópico con pupilometría dinámica tras consumo progresivo de alcohol, con una muestra de edad de hasta 45 años, se ha logrado establecer una relación lineal directa entre la concentración de alcohol en aire espirado (mg/l) y el incremento del diámetro pupilar basal (mm), relación hasta ahora no reflejada en la literatura científica.

Antes de avanzar en la discusión, se considera necesario explicar que el diseño del experimento se ha realizado utilizando los rangos de tolerancia admitidos legalmente con respecto a la ingesta de alcohol en población general, recurriendo a la

normativa de conducción de vehículos que, en la actualidad, es el único documento legal que explicita un límite de intoxicación ética concreto que restrinja una actividad tan relevante y cotidiana, que puede ser influida por el consumo de alcohol y otras sustancias psicotropas. En el entorno europeo, la asignación de límites legales al consumo de sustancias en la conducción (también llamadas leyes “per se”) es una de las políticas más presentes y efectivas en los países miembros para reducir el consumo de alcohol en conductores. El límite legal recomendado de concentración de alcohol en sangre (BAC por sus siglas en inglés) por la Unión Europea es de 0,5 g/l (Rec. de la Comisión, de 17 de enero de 2001). Por tanto, y en consonancia con las recomendaciones europeas, la máxima concentración de alcohol en sangre permitida para conducir un vehículo en España actualmente es de 0,5 g/l en el torrente sanguíneo que equivale a 0,25 mg/l en aire espirado. En el presente trabajo se muestran valores pupilométricos cuyo correlato ético superó, a partir de la segunda ingesta, la cifra límite de concentración de alcohol en aire espirado para conductores al volante.

Existen estudios previos que han tratado de encontrar asociaciones entre diversas variables medidas de forma objetiva y el consumo de alcohol. Por ejemplo, se ha demostrado que el consumo de alcohol reduce las capacidades de un número importante de variables visuales: campo visual, acomodación y convergencia (Hill y Toffolon, 1990) e igualmente se ha demostrado una asociación entre niveles altos de concentración de alcohol en sangre con niveles reducidos de la actividad en el lóbulo frontal (Domingues, Mendonça, Laranjeira, y Nakamura-Palacios, 2009). Otros hallazgos sobre la fisiología del individuo ebrio, han demostrado una reducción de las sensaciones de frío en ambientes de temperatura templada cuando se consumen dosis moderadas de alcohol (Yoda et al., 2008).

Además, a nivel observacional, se ha investigado el grado de acuerdo entre el nivel de alcohol y los registros de signos de ebriedad observables dentro de contextos sociales determinados, especialmente en grupos de tamaño de 4 o 5 personas. En este caso, los participantes fueron muy precisos al discriminar a aquellos con una concentración por debajo y por encima de los 0,20 mg/l en aire espirado (McKnight, Langston, Marques, y Tippetts, 1997). El mismo equipo de investigadores logró aislar el nistagmo horizontal como la medida fisiológica más fiable para distinguir concentraciones iguales a 0,20 mg/l en aire espirado (McKnight, Langston, McKnight, y Lange, 2002).

En cualquier caso, es útil resaltar que, hasta ahora, en la bibliografía consultada no se han podido demostrar métodos de registro objetivos que superen o, al menos,

complementen el diagnóstico resultante de la etilometría. Además, a pesar de la intuición popular, hasta la actualidad, el consumo de alcohol no ha sido sistemáticamente estudiado desde el punto de vista de su efecto sobre las respuestas pupilares. Nuestros resultados, en cambio, relacionan claramente el incremento del diámetro pupilar basal mesópico con los efectos de la intoxicación aguda de alcohol. Estos datos permiten inferir la utilidad de la pupilometría en la detección de la ingesta de otras sustancias psicotropas que hasta el momento no puedan ser evaluadas de manera no invasiva por la espiración de aire.

En línea con las intenciones de esta tesis, existe un estudio reciente (Monticelli et al., 2009) que ha sugerido la utilización de la pupilometría de infrarrojos de forma rutinaria, aplicando de forma masiva en conductores de vehículos para poder detectar la afectación que provocan las sustancias psicotrópicas en el RPL. En este caso, no se obtuvieron resultados concluyentes; de hecho, el registro de la pupilometría no pudo clasificar correctamente a cada consumidor de acuerdo con el tipo de droga consumida y entre las variables afectadas, sólo la velocidad de constricción y de dilatación y el tiempo de amplitud relativo mostraban diferencias significativas con respecto a diferentes consumos.

El análisis pormenorizado de esta investigación en la revisión bibliográfica previa al diseño del experimento de ingesta de alcohol de esta tesis doctoral, indujo a desestimar el análisis de todas las fases del RPL. Sin embargo, se creyó conveniente centrarse en el estudio en profundidad de una variable de gran interés que es el diámetro pupilar basal e incluso se generó una nueva variable denominada incremento del diámetro pupilar basal mesópico (INC mesópico). En la metodología de recogida de datos se hizo especial incidencia en el control de las condiciones de iluminación (mesópica), en la exhaustiva selección de la muestra (jóvenes sanos) y en la secuencia de ingesta prolongada de alcohol (2 l / 5 h). Los investigadores del estudio mencionado (Monticelli et al., 2009) no registraron, en cambio, la variable diámetro pupilar basal como objeto de estudio. En el caso de la presente tesis, por el contrario, se ha incidido en la medida el diámetro pupilar basal pre consumo de alcohol y de este mismo valor en cada una de las 4 ingestas, simulando una situación real de consumo colectivo/social.

Se recuerda que, sin la influencia del alcohol, la media del diámetro pupilar basal mesópico y su desviación típica alcanzaron en este estudio los valores de 5,88 y 1,0 mm, respectivamente. En este sentido, no se han encontrado estudios de estas mismas características que efectúen la medida del diámetro pupilar basal en condiciones mesópicas. En otros ambientes de iluminación, estudios similares a éste

han reportado, por ejemplo, en una muestra de jóvenes de semejantes características, un diámetro basal de 3,35 de media y 0,72 mm de desviación típica, respectivamente, en condiciones fotópicas; y de 6,41 de media, y 1,55 mm de desviación típica, respectivamente, bajo condiciones escotópicas (Richman, Golden McAndrew, Decker, & Mullaney, 2004). De esta manera, el diámetro medio obtenido en el experimento II es ligeramente inferior a los promedios hallados en condiciones escotópicas por el referido estudio. Sin embargo, se trata éste de un hecho esperable, que se debe a que las condiciones de iluminación mesópicas implican un ligeramente mayor nivel de iluminación y, por ende, menor dilatación de la apertura pupilar.

Ciertos estudios clásicos han mostrado unos valores pupilares basales menores por parte de los afectados por alcoholismo, en relación con sujetos sanos (Rubin, Gottheil, Roberts, Alterman, y Holstine, 1977). A su vez, este hecho se complementaba con una dilatación atenuada ante ciertos estímulos en sujetos diagnosticados de alcoholismo, en comparación con los sujetos sin adicción. Este hecho no está en la línea con los hallazgos del presente estudio, dado el incremento evidente y continuo del diámetro basal a medida que se consume alcohol mostrado en el presente experimento. Esta incongruencia entre los resultados de ambos trabajos puede explicarse globalmente debido a que los participantes del presente estudio no han sido diagnosticados de ningún tipo de adicción a sustancias psicotrópicas, lo que descarta posibles déficit funcionales o morfológicos que pudiera sufrir un individuo diagnosticado de alcoholismo y que, supuestamente, alterarían las respuestas del diámetro pupilar al ser comparadas con las de sujetos sanos ebrios. La dilatación atenuada producida por estimulación táctil tampoco se ha conseguido en la presente tesis, aunque en este caso se debió a la naturaleza del estímulo elegido, que, al ser luminoso, implica la contracción del tamaño pupilar.

En cualquier caso, cierta evidencia reciente indica que lo informativo en algunas intoxicaciones con sustancias psicótropas no es solo el diámetro pupilar basal, sino algunas anomalías en la curva RPL, un conjunto de elementos clave que parecen asociarse a un mayor consumo de droga (Yanagawa, Miyazaki, y Sakamoto, 2010). Aunque en el estudio del experimento II se demuestra que el diámetro pupilar basal es indicativo de una afección del sujeto debida a condiciones de embriaguez, igualmente nuestro equipo está involucrado en estudios que ponen en relación el consumo de alcohol con el reflejo pupilar a la luz, ya que, a la vista de los resultados actuales, se espera que la curva pupilar igualmente ofrezca diferencias entre grupo intervenido y grupo control. Además, sería interesante confirmar estos datos y pronósticos en sujetos intoxicados por otro tipo de sustancias.

De hecho, varios estudios han encontrado ciertas diferencias en variables del RPL. Por ejemplo, se ha observado que, tras la ingesta de 2 ml de alcohol, se reduce la amplitud y la velocidad de constricción (Pickworth y Murillo, 2007; Rubin et al., 1978). Sin embargo, se trata éste de un nuevo ejemplo de inespecificidad según sustancia consumida, pues, en el primer caso, los resultados se obtenían igualmente cuando se consumían marihuana y otras drogas, y, por tanto, no eran específicos del alcohol. Además, en ambos estudios los participantes tenían una historia de abuso de drogas, algo que, sin duda, puede suponer una variable de confusión sobre la variable dependiente.

Por otro lado, en cuanto a la justificación del método de medida alcohólica, se ha debatido mucho acerca de la conveniencia o no del método etilométrico para medir la alcoholemia. En este sentido, la pupilometría puede tener una serie de ventajas como medida de la misma. Por ejemplo, su aplicación es no-invasiva, ya que ni siquiera implica que el sujeto evaluado entre en contacto con ningún elemento, algo que sí ocurre con el etilómetro actual y que implica ciertos riesgos y prevenciones. Por otro lado, se trata de un método de bajo costo y que, fundamentalmente mide un reflejo automático e incontrolable de forma voluntaria. La pupilometría podría, asimismo, evitar falsos positivos como los que se han encontrado asociados a la etilometría, ya sean estos debidos a la inhalación de aerosoles para el asma por parte del examinado (García et al., 2002) o a la utilización de geles antisépticos por parte del examinador (Ali et al., 2013), que han mostrado contaminar las medidas.

9.3 Líneas de investigación de futuro y limitaciones del estudio

9.3.1 Líneas futuras de investigación del experimento I. Variaciones del RPL mesópico debidas a la longitud de onda del estímulo luminoso y a la edad

Muchas investigaciones han utilizado estímulos cromáticos con objeto de comprender los mecanismos involucrados en la respuesta pupilar al color y su posible aplicación (Barbur, 2004; Barbur, Harlow, y Plant, 1994; Barbur et al., 1992; Moro et al., 2007). Cada longitud de onda va a implicar la aparición de mecanismos neuronales diferentes que pueden provocar cambios perceptibles en las variaciones pupilares.

Hasta la actualidad no se han reportado estudios con amplias muestras comparando el RPL en respuesta a diferentes longitudes de onda. La ventaja evidente de registrar las respuestas pupilares de una amplia muestra a estímulos cromáticos isoluminantes implica la posibilidad de patronizar una respuesta normal ante este tipo

de estímulos, y poder comparar consiguientemente, las respuestas que ofrecen otro tipo de colectivos: según enfermedades neurodegenerativas, sistémicas u oculares; según la ingesta de fármacos o sustancias psicotrópicas y alcohol; según estados emocionales; según control del estado físico-funcional de atletas y colectivos de otras características.

El diámetro pupilar basal se considera una variable tónica y los cambios tónicos a nivel pupilar son un indicador general que refleja el arousal autonómico, activado por la rama simpática (función del LC-NA). En esta investigación los resultados presentan una disminución del diámetro pupilar basal en función de la edad. Esta conexión entre el parámetro de diámetro pupilar basal y la actividad tónica del sistema LC-NA puede ser de gran interés en futuros estudios basados en múltiples investigaciones realizadas en la última década (Aston-Jones y Cohen, 2005; Heitz, Schrock, Payne, y Engle, 2008; Van Der Meer et al., 2010; Wang, Boehnke, White, y Munoz, 2012). Concretamente, debido a esta última conexión, se considera interesante determinar la contribución del déficit noradrenérgico en la disfunción cognitiva en la enfermedad Parkinson (EP) (Del Tredici y Braak, 2013), buscando un posible modelo de regresión lineal que sirva como predictor para evaluar el patrón de respuesta de enfermos de EP, y compararlo con personas sanas. También se ha defendido su uso de la variable de diámetro pupilar basal para la detección de la enfermedad de Alzheimer (EA) (Frost et al., 2013; Prettyman et al., 1997). Existe, en cualquier caso, una importante controversia con respecto a la detección de EA a través del RPL por la confusión anatómica que ha existido sobre los núcleos EW, y que ha dado lugar a confusiones (Kozicz et al., 2011), ya explicadas en el apartado de Introducción.

Se propone, además, que los estudios pupilométricos futuros aplicados a procesos de envejecimiento del sistema nervioso autónomo cefálico o a patologías asociadas a etapas diversas del ciclo vital incluyan métodos de imagen funcional o electroencefalografía y una o más variables, además de las propias variables pupilares, con las que se pueda apreciar cierto patrón de correlación.

9.3.2 Experimento I. Limitaciones.

El aumento del tamaño muestral, considerando un número suficiente de personas por grupos de edad, distribuidos en 8 décadas, es una condición imprescindible para mejorar esta investigación.

Por otro lado, sería necesaria la constatación mediante pruebas clínicas realizadas por especialistas tanto en medicina general, como oftalmología y ciencias

de la visión, para ratificar la manifestación de ausencia de patologías sistémicas y oculares por parte de los participantes, que se encontraba dentro de los criterios de exclusión. La falta de estas pruebas ha podido enmascarar enfermedades latentes (no conocidas por los participantes), que no hayan sido correctamente consideradas al realizar los registros pupilométricos.

Se sugiere, asimismo, la inclusión, en paralelo a la medición de variables pupilares, de otras medidas autonómicas, lo que puede permitir la obtención de patrones de correlación entre diferentes sistemas inervados autonómicamente. La combinación de, al menos, dos pruebas, favorecerá tanto al diagnóstico de screening, como a la utilización de un indicador de evolución de la enfermedad o a la definición de patrones específicos de enfermedades (Bär et al., 2008; Maguire et al., 2007; Malpas, 2002).

9.3.3 Líneas futuras de investigación del experimento II. Variaciones del incremento del diámetro pupilar basal mesópico según consumo progresivo de alcohol

Con respecto al experimento II, se ha demostrado la modificación de los valores pupilares tras el consumo de alcohol. Concretamente, se detecta una relación lineal entre concentración de alcohol en aire espirado (mg/l) y el incremento del diámetro pupilar basal. Estos resultados legitiman la identificación de la variable incremento del diámetro pupilar basal como indicador útil del nivel de alcoholemia.

Entre las futuras líneas de investigación a las que se pueden orientar los resultados de este estudio, se quiere destacar en esta discusión la implementación de la pupilometría estática y dinámica como metodología para obtener indicadores objetivos, no invasivos y no manipulables del estado físico, psíquico y emocional de los individuos. En particular, parece interesante evidenciar cuantitativamente no solo la detección de consumo de alcohol, sino la detección de ingesta de otras sustancias psicotrópicas, cada vez más utilizadas, como sustancias de tipo anfetamínico y el abuso de medicamentos recetados (Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Crimen, 2013), cuyo consumo pueda afectar a la realización de tareas que requieren un estado físico y mental óptimo. Entre las actividades a las que se hace referencia, destacan la conducción de vehículos, la utilización de maquinaria de riesgo, las pruebas de rendimiento y otras.

A modo de ejemplo se destaca el hecho de que, en una actividad masiva y cotidiana como es la conducción de vehículos, la investigación pupilométrica puede

testar grandes muestras de población con la intención de patronizar el reflejo pupilar a la luz bajo la influencia del alcohol u otras sustancias. Este tipo de conocimiento podría servir como diagnóstico complementario al actual examen etilométrico, así como incorporar una valoración objetiva de la ingesta de sustancias psicótropas o/y del estado mental del usuario, ya que las cifras en España en términos siniestrabilidad son preocupantes. Concretamente, según el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, un 32,8% del total de muertes por accidente de tráfico en 2011 (INTCF, 2012) y un 35,1% en 2012 (INTCF, 2013) habían consumido alcohol únicamente o junto con otras sustancias psicotropas.

Todos estos datos inducen a pensar que es conveniente plantear el diseño de instrumental y nueva metodología para la realización de estudios que, utilicen diversos estímulos como luces de diferentes longitudes de onda, sonidos, estimulación táctil, que permitan registrar tanto el diámetro pupilar y su incremento como las distintas fases del RPL. Todo ello podría aportar un elemento innovador y discriminativo para su aplicación en el campo de la determinación del consumo de drogas y del conocimiento general del estado psicofísico de un individuo.

9.3.4 Experimento II. Limitaciones

El tamaño muestral de este experimento debe ser aumentado, pudiendo estudiar muestras de personas de diferentes características. La pupilometría puede ser implementada en población general y grandes colectivos, y, ello permitiría realizar estudios epidemiológicos a medio plazo.

El intervalo de edad analizado en este trabajo se ha limitado a personas jóvenes. Considerando que la ingesta aguda y crónica de alcohol, es realizada por personas de cualquier edad, este trabajo debe ampliarse a una muestra que incluya personas de ambos sexos y de todo rango de edad, incluso debería considerarse la inclusión de un subgrupo de personas con patologías sistémicas y oculares que tengan las condiciones físicas y psíquicas necesarias para mantener/obtener el permiso de conducir.

Aunque la aplicabilidad de la pupilometría en el marco del consumo de alcohol y la conducción de vehículos es sugerente y abre nuevas vías de innovación en instrumentos de screening de sustancias, es cierto que su aplicabilidad en sentido estricto es limitada en el contexto nacional actual si se propusiese como prueba única, puesto que la determinación de la influencia de alcohol exacta se realiza mediante la determinación objetiva de alcohol en sangre.

10 CONCLUSIONES

A continuación se exponen las conclusiones de esta tesis doctoral:

1. El diámetro pupilar basal mesópico es semejante al encontrado por otros autores en grupos de población con las mismas características de persona que el analizado en esta investigación. El sexo no produce cambios en el diámetro pupilar basal. La edad influye negativamente en el diámetro pupilar basal mesópico.
2. Existe efecto de la interacción entre la longitud de onda del estímulo incidente y la edad de los individuos en los reflejos pupilares evocados por la estimulación luminosa.
3. En individuos jóvenes (<45 años) la longitud de onda de la luz incidente influye en la latencia, la amplitud y la velocidad de constricción.
4. En individuos mayores (>45 años) la longitud de onda de la luz incidente influye en la amplitud de respuesta.
5. El grupo de edad de los individuos influye en la latencia frente a estimulación con luz blanca y en la velocidad de constricción frente a estimulación con luz verde de 510 nm.
6. Existe una relación lineal entre la concentración de alcohol en aire espirado y el incremento del diámetro pupilar basal tras consumo de alcohol en jóvenes. No se encontraron diferencias del incremento pupilar con significación estadística en función del sexo.

11 BIBLIOGRAFÍA

- Abercrombie, E., & Jacobs, B. (1987). Single-unit response of noradrenergic neurons in the locus coeruleus of freely moving cats. I. Acutely presented stressful and nonstressful stimuli. *The Journal of Neuroscience*, 7(9), 2837-2843.
- Abroms, B. D., & Fillmore, M. T. (2004). Alcohol-induced impairment of inhibitory mechanisms involved in visual search. *Experimental and clinical psychopharmacology*, 12(4), 243.
- Adrian, W. (2003). Spectral sensitivity of the pupillary system. *Clinical and Experimental Optometry*, 86(4), 235-238. doi:10.1111/j.1444-0938.2003.tb03111.x
- Ahnelt, P. K. (1998). The photoreceptor mosaic. *Eye*, 12(3b), 531-540.
- Aivar Rodríguez, P., Gómez Sena, L., Maiche Marini, A., Moreno Alcázar, A., & Travieso García, D. (2010). Sistemas sensoriales y motores. En *Psicología fisiológica* (Vol. PID_00153742, p. 222). Barcelona: Fundación Universidad Oberta de Catalunya.
- Alexandridis, E., & Krastel, H. (1990). New Equipment for Pupillographic Perimetry. *Neuro-Ophthalmology*, 10(6), 331-336. doi:10.3109/01658109009009632
- Ali, S. S., Wilson, M. P., Castillo, E. M., Witucki, P., Simmons, T. T., & Vilke, G. M. (2013). Common Hand Sanitizer May Distort Readings of Breathalyzer Tests in the Absence of Acute Intoxication. *Academic Emergency Medicine*, 20(2), 212-215. doi:10.1111/acem.12073
- Amemiya, S., & Ohtomo, K. (2012). Effect of the observed pupil size on the amygdala of the beholders. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 7(3), 332-341. doi:10.1093/scan/nsr013
- Andersen, G. J. (2012). Aging and vision: changes in function and performance from optics to perception. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, 3(3), 403-410.
- Andersen, G. J., Cisneros, J., Atchley, P., & Saidpour, A. (1999). Speed, size, and edge-rate information for the detection of collision events. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 25(1), 256. doi:10.1037/0096-1523.25.1.256

- Andersen, G. J., & Enriquez, A. (2006). Aging and the detection of observer and moving object collisions. *Psychology and aging*, 21(1), 74. doi:10.1037/0882-7974.21.1.74
- Anderson, C. J., & Colombo, J. (2009). Larger tonic pupil size in young children with autism spectrum disorder. *Developmental Psychobiology*, 51(2), 207-211. doi:10.1002/dev.20352
- Anderson, C. J., Colombo, J., & Jill Shaddy, D. (2006). Visual Scanning and Pupillary Responses in Young Children with Autism Spectrum Disorder. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 28(7), 1238-1256. doi:10.1080/13803390500376790
- Arnold, A. C., Gallagher, P. E., & Diz, D. I. (2013). Brain renin-angiotensin system in the nexus of hypertension and aging. *Hypertens Res*, 36(1), 5-13. doi:10.1038/hr.2012.161
- Arnold, R. W. (1990). Quantification of Afferent Pupillary Defect by Double Polarized Filter. *Archives of ophthalmology*, 108(12), 1666.
- Arnsten, A. F. T., Wang, M. J., & Paspalas, C. D. (2012). Neuromodulation of Thought: Flexibilities and Vulnerabilities in Prefrontal Cortical Network Synapses. *Neuron*, 76(1), 223-239. doi:10.1016/j.neuron.2012.08.038
- Artigas, J., Capilla, P., Felipe, A., & Pujol, J. (1995). *Óptica fisiológica: psicofísica de la visión*. Madrid: Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Aston-Jones, G., & Cohen, J. D. (2005). An Integrative Theory of Locus Coeruleus-Norepinephrine Function: Adaptive Gain and Optimal Performance. *Annual Review of Neuroscience*, 28(1), 403-450. doi:10.1146/annurev.neuro.28.061604.135709
- Atchison, D. A., Girgenti, C. C., Campbell, G. M., Dodds, J. P., Byrnes, T. M., & Zele, A. J. (2011). Influence of field size on pupil diameter under photopic and mesopic light levels. *Clinical and Experimental Optometry*, 94(6), 545-548. doi:10.1111/j.1444-0938.2011.00636.x
- Atchley, P., & Andersen, G. J. (1998). The effect of age, retinal eccentricity, and speed on the detection of optic flow components. *Psychology and aging*, 13(2), 297. doi:10.1037/0882-7974.13.2.297
- Bailes, H. J., & Lucas, R. J. (2013). Human melanopsin forms a pigment maximally sensitive to blue light ($\lambda_{\text{max}} \approx 479$ nm) supporting activation of Gq/11 and Gi/o

- signalling cascades. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1759). doi:10.1098/rspb.2012.2987
- Bakes, A., Bradshaw, C., & Szabadi, E. (1990). Attenuation of the pupillary light reflex in anxious patients. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 30(3), 377-381. doi:10.1111/j.1365-2125.1990.tb03787.x
- Balazsi, A., Rootman, J., Drance, S., Schulzer, M., & Douglas, G. (1984). The effect of age on the nerve fiber population of the human optic nerve. *American journal of ophthalmology*, 97(6), 760-766.
- Barbur, J. (1995). A Study of Pupil Response Components in Human Vision. En J. Robbins, M. A. Djamgoz, & A. Taylor (Eds.), *Basic and Clinical Perspectives in Vision Research* (pp. 3-18). Springer US. Recuperado a partir de http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4757-9362-8_1
- Barbur, J. (2004). Learning from the pupil: studies of basic mechanisms and clinical applications. En *The Visual Neurosciences* (pp. 641-656). Cambridge: MIT Press.
- Barbur, J. L., Harlow, A. J., & Plant, G. T. (1994). Insights into the Different Exploits of Colour in the Visual Cortex. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 258(1353), 327-334. doi:10.1098/rspb.1994.0181
- Barbur, J. L., Harlow, A. J., & Sahraie, A. (1992). Pupillary responses to stimulus structure, colour and movement. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 12(2), 137-141. doi:10.1111/j.1475-1313.1992.tb00276.x
- Barbur, J. L., Moro, S., Harlow, J. A., Lam, B. L., & Liu, M. (2004). Comparison of pupil responses to luminance and colour in severe optic neuritis. *Clinical Neurophysiology*, 115(11), 2650-2658. doi:10.1016/j.clinph.2004.05.022
- Bär, K.-J., Boettger, M. K., Schulz, S., Neubauer, R., Jochum, T., Voss, A., & Yeragani, V. K. (2008). Reduced cardio-respiratory coupling in acute alcohol withdrawal. *Drug and Alcohol Dependence*, 98(3), 210-217. doi:10.1016/j.drugalcdep.2008.05.012
- Bär, K.-J., Schulz, S., Koschke, M., Harzendorf, C., Gayde, S., Berg, W., ... Boettger, M. K. (2009). Correlations between the autonomic modulation of heart rate, blood pressure and the pupillary light reflex in healthy subjects. *Journal of the Neurological Sciences*, 279(1-2), 9-13. doi:10.1016/j.jns.2009.01.010

- Baum, P., Petroff, D., Classen, J., Kiess, W., & Blüher, S. (2013). Dysfunction of autonomic nervous system in childhood obesity: a cross-sectional study. *PloS one*, 8(1), e54546. doi:10.1371/journal.pone.0054546
- Beatty, J., & Lucero-Wagoner, B. (2000). The pupillary system. *Handbook of psychophysiology*, 2, 142-162.
- Beebe, D. C., & Coats, J. M. (2000). The Lens Organizes the Anterior Segment: Specification of Neural Crest Cell Differentiation in the Avian Eye. *Developmental Biology*, 220(2), 424-431. doi:10.1006/dbio.2000.9638
- Bergamin, O., & Kardon, R. H. (2003). Latency of the Pupil Light Reflex: Sample Rate, Stimulus Intensity, and Variation in Normal Subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(4), 1546-1554. doi:10.1167/iovs.02-0468
- Bergamin, O., Schoetzaue, A., Sugimoto, K., & Zulauf, M. (1998). The influence of iris color on the pupillary light reflex. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 236(8), 567-570. doi:10.1007/s004170050122
- Berridge, C. W., & Waterhouse, B. D. (2003). The locus coeruleus–noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Research Reviews*, 42(1), 33-84. doi:10.1016/S0165-0173(03)00143-7
- Berson, D. M. (2003). Strange vision: ganglion cells as circadian photoreceptors. *Trends in Neurosciences*, 26(6), 314-320. doi:10.1016/S0166-2236(03)00130-9
- Berthoud, H.-R., & Neuhuber, W. L. (2000). Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Fever: the role of the vagus nerve*, 85(1–3), 1-17. doi:10.1016/S1566-0702(00)00215-0
- Billino, J., Bremmer, F., & Gegenfurtner, K. R. (2008). Differential aging of motion processing mechanisms: Evidence against general perceptual decline. *Vision Research*, 48(10), 1254-1261. doi:10.1016/j.visres.2008.02.014
- Binda, P., Pereverzeva, M., & Murray, S. O. (2013a). Attention to bright surfaces enhances the pupillary light reflex. *The Journal of Neuroscience*, 33(5), 2199-2204. doi:10.1523/JNEUROSCI.3440-12.2013
- Binda, P., Pereverzeva, M., & Murray, S. O. (2013b). Pupil constrictions to photographs of the sun. *Journal of Vision*, 13(6). doi:10.1167/13.6.8
- Bitsios, P., Langley, R. W., Szabadi, E., & Bradshaw, C. M. (1996). Comparison of the effects of clonidine on tyramine- and methoxamine-evoked mydriasis in man.

British Journal of Clinical Pharmacology, 41(4), 269-275. doi:10.1046/j.1365-2125.1996.03202.x

- Bitsios, P., Prettyman, R., & Szabadi, E. (1996). Changes in Autonomic Function with Age: A Study of Pupillary Kinetics in Healthy Young and Old People. *Age and Ageing*, 25(6), 432-438. doi:10.1093/ageing/25.6.432
- Blaser, E., Eglinton, L., Carter, A. S., & Kaldy, Z. (2014). Pupillometry Reveals a Mechanism for the Autism Spectrum Disorder (ASD) Advantage in Visual Tasks. *Sci. Rep.*, 4. doi:10.1038/srep04301
- Boxer Wachler, B. S., & Krueger, R. R. (1999). Agreement and repeatability of infrared pupillometry and the comparison method. *Ophthalmology*, 106(2), 319-323. doi:10.1016/S0161-6420(99)90070-2
- Boxer Wachler, B. S., & Krueger, R. R. (2000). Agreement and repeatability of pupillometry using videokeratography and infrared devices11Neither author has a financial interest in any device mentioned. *Journal of cataract and refractive surgery*, 26(1), 35-40.
- Bradley, J. C., Bentley, K. C., Mughal, A. I., Bodhireddy, H., & Brown, S. M. (2011). Dark-adapted pupil diameter as a function of age measured with the NeuroOptics pupillometer. *J Refract Surg*, 27, 202 - 207. doi:10.3928/1081597X-20100511-01
- Bradley, J. C., Cohn, C. D., Wu, P. W., & Brown, S. M. (2011). Comparison of a monocular pupillometer and the pupillometry function of a binocular free-viewing autorefractor. *Journal of cataract and refractive surgery*, 37(7), 1257-1262. doi:10.1016/j.jcrs.2011.01.026
- Breen, L. A., Burde, R. M., & Loewy, A. D. (1983). Brainstem connections to the Edinger-Westphal nucleus of the cat: a retrograde tracer study. *Brain Research*, 261(2), 303-306. doi:10.1016/0006-8993(83)90633-9
- Bremner, F. (2009). Pupil evaluation as a test for autonomic disorders. *Clinical Autonomic Research*, 19(2), 88-101. doi:10.1007/s10286-009-0515-2
- Bremner, F. D. (2004). Pupil assessment in optic nerve disorders. *Eye*, 18(11), 1175-1181. doi:doi:10.1038/sj.eye.6701560
- Bremner, F. D. (2012). Pupillometric Evaluation of the Dynamics of the Pupillary Response to a Brief Light Stimulus in Healthy Subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(11), 7343-7347. doi:10.1167/iovs.12-10881

- Bremner, F. D., Shallo–Hoffmann, J., Riordan–Eva, P., & Smith, S. E. (1999). Comparing pupil function with visual function in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 40(11), 2528-2534.
- Bremner, F. D., Tomlin, E. A., Shallo–Hoffmann, J., Votruba, M., & Smith, S. E. (2001). The Pupil in Dominant Optic Atrophy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42(3), 675-678.
- Bremner, F., & Smith, S. (2006). Pupil findings in a consecutive series of 150 patients with generalised autonomic neuropathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 77(10), 1163-1168. doi:10.1136/jnnp.2006.092833
- Briand, L. A., Gritton, H., Howe, W. M., Young, D. A., & Sarter, M. (2007). Modulators in concert for cognition: Modulator interactions in the prefrontal cortex. *Progress in Neurobiology*, 83(2), 69-91. doi:10.1016/j.pneurobio.2007.06.007
- Buijs, R. M., Escobar, C., & Swaab, D. F. (2013). Chapter 15 - The circadian system and the balance of the autonomic nervous system. En Ruud M. Buijs and Dick F. Swaab (Ed.), *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. Volume 117, pp. 173-191). Elsevier. Recuperado a partir de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444534910000158>
- Bullier, J. (2001). Integrated model of visual processing. *The Brain in Health and Disease - from Molecules to Man. Swiss National Foundation Symposium NRP 38*, 36(2–3), 96-107. doi:10.1016/S0165-0173(01)00085-6
- Büttner-Ennever, J. A., Cohen, B., Horn, A. K. E., & Reisine, H. (1996). Efferent pathways of the nucleus of the optic tract in monkey and their role in eye movements. *Journal of Comparative Neurology*, 373(1), 90-107.
- Cahill, M., Eustace, P., & de Jesus, V. (2001). Pupillary autonomic denervation with increasing duration of diabetes mellitus. *British journal of ophthalmology*, 85(10), 1225-1230. doi:10.1136/bjo.85.10.1225
- Calafat, A., Cajal, B., Juan, M., Mendes, F., Kokkevi, A., Blay, N., ... Duch, M. A. (2010). The influence of personal networks on the use and abuse of alcohol and drugs La influencia de las redes personales en el uso y abuso de alcohol y drogas. *Adicciones*, 22(2), 147-154.
- Callaway, E. M. (2004). Feedforward, feedback and inhibitory connections in primate visual cortex. *Vision and Brain*, 17(5–6), 625-632. doi:10.1016/j.neunet.2004.04.004

- Capão Filipe, J. A., Falcão-Reis, F., Castro-Correia, J., & Barros, H. (2003). Assessment of autonomic function in high level athletes by pupillometry. *Autonomic Neuroscience*, 104(1), 66-72. doi:10.1016/S1566-0702(02)00268-0
- Carlson, B. (2005). *Embriología humana y biología del desarrollo* (3ª ed.). Barcelona: Elsevier España.
- Chen, Y., Wyatt, H. J., & Swanson, W. H. (2005). Pupillary evaluation of retinal asymmetry: Development and initial testing of a technique. *Vision Research*, 45(19), 2549-2563. doi:10.1016/j.visres.2005.04.003
- Chen, Y., Wyatt, H. J., Swanson, W. H., & Dul, M. W. (2008). Rapid pupil-based assessment of glaucomatous damage. *Optometry and vision science: official publication of the American Academy of Optometry*, 85(6), 471. doi:10.1097/OPX.0b013e318177ec02
- Cheung, C. Y., Liu, S., Weinreb, R. N., Liu, J., Li, H., Leung, D. Y., ... Leung, C. K. (2010). Dynamic Analysis of Iris Configuration with Anterior Segment Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(8), 4040-4046. doi:10.1167/iovs.09-3941
- CIE. (1924). *Proceedings of the Commission Internationale de l'Eclairage*. Ginebra: CIE.
- CIE. (1951). *CIE Proceedings 1951*. París: CIE.
- CIE. (2010). *Recommended system for mesopic photometry based on visual performance*. (No. CIE 191:2010). Viena: CIE.
- Cohen, H. L., Porjesz, B., Stirnus, A. T., & Begleiter, H. (1998). Effects of Ethanol on Temporal Recovery of Auditory-Evoked Potentials in Individuals at Risk for Alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22(4), 945-953. doi:10.1111/j.1530-0277.1998.tb03894.x
- Collinson, J. M., Quinn, J. C., Buchanan, M. A., Kaufman, M. H., Wedden, S. E., West, J. D., & Hill, R. E. (2001). Primary defects in the lens underlie complex anterior segment abnormalities of the Pax6 heterozygous eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(17), 9688-9693. doi:10.1073/pnas.161144098
- Colvard, M. (2003). Defining mesopic and scotopic. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 29(1), 6-7. doi:10.1016/S0886-3350(02)02005-9

- Cox, T. A., Thompson, H. S., Hayreh, S. S., & Snyder, J. E. (1982). Visual evoked potential and pupillary signs: a comparison in optic nerve disease. *Archives of ophthalmology*, 100(10), 1603-1607. doi:10.1001/archopht.1982.01030040581004
- Craig, A. (2003). Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Current Opinion in Neurobiology*, 13(4), 500-505. doi:10.1016/S0959-4388(03)00090-4
- Critchley, H. D., Nagai, Y., Gray, M. A., & Mathias, C. J. (2011). Dissecting axes of autonomic control in humans: Insights from neuroimaging. *Special Section: A selection of papers from the 6th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience (ISAN), September, 2009*, 161(1–2), 34-42. doi:10.1016/j.autneu.2010.09.005
- Croner, L. J., & Kaplan, E. (1995). Receptive fields of P and M ganglion cells across the primate retina. *Vision Research*, 35(1), 7-24. doi:10.1016/0042-6989(94)E0066-T
- Cudeiro, J. (2008). El Mundo Visual: Percibiendo el Futuro; The Visual World: Perceiving the Future. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 83, 635-636.
- Cudeiro, J., & Sillito, A. M. (2006). Looking back: corticothalamic feedback and early visual processing. *Trends in Neurosciences*, 29(6), 298-306. doi:10.1016/j.tins.2006.05.002
- Curcio, C. A., Millican, C. L., Allen, K. A., & Kalina, R. E. (1993). Aging of the human photoreceptor mosaic: evidence for selective vulnerability of rods in central retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 34(12), 3278-3296.
- Cvekl, A., & Tamm, E. R. (2004). Anterior eye development and ocular mesenchyme: new insights from mouse models and human diseases. *BioEssays*, 26(4), 374-386. doi:10.1002/bies.20009
- Dacey, D. M., Liao, H.-W., Peterson, B. B., Robinson, F. R., Smith, V. C., Pokorny, J., ... Gamlin, P. D. (2005). Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*, 433(7027), 749-754. doi:10.1038/nature03387
- Daneault, V., Vandewalle, G., Hébert, M., Teikari, P., Mure, L. S., Doyon, J., ... Carrier, J. (2012). Does Pupil Constriction under Blue and Green Monochromatic Light

- Exposure Change with Age? *Journal of Biological Rhythms*, 27(3), 257-264. doi:10.1177/0748730412441172
- Daugman, J. G. (1993). High confidence visual recognition of persons by a test of statistical independence. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 15(11), 1148-1161. doi:10.1109/34.244676
- Davagnanam, I., Fraser, C. L., Miskiel, K., Daniel, C. S., & Plant, G. T. (2013). Adult Horner's syndrome: a combined clinical, pharmacological, and imaging algorithm. *Eye*, 27(3), 291-298.
- Davis-Silberman, N., & Ashery-Padan, R. (2008). Iris development in vertebrates; genetic and molecular considerations. *Retinal Development*, 1192(0), 17-28. doi:10.1016/j.brainres.2007.03.043
- De Groot, S., & Gebhard, J. (1952). Pupil size as determined by adapting luminance. *JOSA*, 42(7), 492-495.
- Delori, F. C., Goger, D. G., & Dorey, C. K. (2001). Age-Related Accumulation and Spatial Distribution of Lipofuscin in RPE of Normal Subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42(8), 1855-1866.
- Del Tredici, K., & Braak, H. (2013). Dysfunction of the locus coeruleus–norepinephrine system and related circuitry in Parkinson's disease-related dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 84(7), 774-783. doi:10.1136/jnnp-2011-301817
- Devlbiss, D. M., & Waterhouse, B. D. (2011). Phasic and tonic patterns of locus coeruleus output differentially modulate sensory network function in the awake rat. *Journal of Neurophysiology*, 105(1), 69. doi:10.1152/jn.00445.2010
- De Wit, H., Metz, J., Wagner, N., & Cooper, M. (1990). Behavioral and Subjective Effects of Ethanol: Relationship to Cerebral Metabolism Using PET. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 14(3), 482-489. doi:10.1111/j.1530-0277.1990.tb00508.x
- De Zavalía, N., Plano, S. A., Fernandez, D. C., Lanzani, M. F., Salido, E., Belforte, N., ... Rosenstein, R. E. (2011). Effect of experimental glaucoma on the non-image forming visual system. *Journal of Neurochemistry*, 117(5), 904-914. doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07260.x
- Do Canto-Pereira, L. H. M., David, I. de P., Machado-Pinheiro, W., & Ranvaud, R. D. (2007). Effects of acute alcohol intoxication on visuospatial attention. *Human & Experimental Toxicology*, 26(4), 311-319. doi:10.1177/0960327106070490

- Domingues, S. C. A., Mendonça, J. B., Laranjeira, R., & Nakamura-Palacios, E. M. (2009). Drinking and driving: a decrease in executive frontal functions in young drivers with high blood alcohol concentration. *Alcohol*, 43(8), 657-664. doi:10.1016/j.alcohol.2009.10.001
- Do, M. T. H., Kang, S. H., Xue, T., Zhong, H., Liao, H.-W., Bergles, D. E., & Yau, K.-W. (2009). Photon capture and signalling by melanopsin retinal ganglion cells. *Nature*, 457(7227), 281-287. doi:10.1038/nature07682
- Doughty, M. J., & Lyle, W. M. (1992). A review of the clinical pharmacokinetics of pilocarpine, moxislyte (thymoxamine), and dapiprazole in the reversal of diagnostic pupillary dilation. *Optometry & Vision Science*, 69(5), 358-368.
- Doyle, A. J. (1990). Optic chiasm position on MR images. *American Journal of Neuroradiology*, 11(3), 553-555.
- Drew, P., Sayres, R., Watanabe, K., & Shimojo, S. (2001). Pupillary response to chromatic flicker. *Experimental Brain Research*, 136(2), 256-262. doi:10.1007/s002210000605
- Duchowski, A. (2002). A breadth-first survey of eye-tracking applications. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 34(4), 455-470. doi:10.3758/BF03195475
- Du, Y. E. (2006). Review of iris recognition: cameras, systems, and their applications. *Sensor Review*, 26(1), 66-69. doi:10.1108/02602280610640706
- Ecker, J. L., Dumitrescu, O. N., Wong, K. Y., Alam, N. M., Chen, S.-K., LeGates, T., ... Hattar, S. (2010). Melanopsin-Expressing Retinal Ganglion-Cell Photoreceptors: Cellular Diversity and Role in Pattern Vision. *Neuron*, 67(1), 49-60. doi:- 10.1016/j.neuron.2010.05.023
- Edgar, D. F., Crabb, D. P., Rudnicka, A. R., Lawrenson, J. G., Guttridge, N. M., & O'Brien, C. J. (1999). Effects of dipivefrin and pilocarpine on pupil diameter, automated perimetry and LogMAR acuity. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 237(2), 117-124. doi:10.1007/s004170050206
- Ellis, C. (1981). The pupillary light reflex in normal subjects. *British Journal of Ophthalmology*, 65(11), 754-759.
- Elmaleh, V. I., Biousse, V., & Newman, N. J. (2010). Transient Mydriasis with Cholinergic Supersensitivity: Is it related to Adie Tonic Pupil? *Neuro-Ophthalmology*, 34(2), 96-99.

- Enoch, J. M., Werner, J. S., Haegerstrom-Portnoy, G., Lakshminarayanan, V., & Rynders, M. (1999). Forever Young: Visual Functions Not Affected or Minimally Affected by Aging: A Review. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 54(8), B336-B351. doi:10.1093/gerona/54.8.B336
- Epstein, R., & Kanwisher, N. (1998). A cortical representation of the local visual environment. *Nature*, 392(6676), 598-601. doi:10.1038/33402
- Ericson, M., Löf, E., Stomberg, R., Chau, P., & Söderpalm, B. (2008). Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Anterior, but Not Posterior, Ventral Tegmental Area Mediate Ethanol-Induced Elevation of Accumbal Dopamine Levels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 326(1), 76-82. doi:10.1124/jpet.108.137489
- Estruch, R. (2002). Efectos del alcohol en la fisiología humana. *Adicciones*, 14(SUPL 1), 43.
- Ettinger, E. R., Wyatt, H. J., & London, R. (1991). Anisocoria. Variation and clinical observation with different conditions of illumination and accommodation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 32(3), 501-509.
- Ezpeleta Echávarri, D. (2007). Trastornos pupilares eferentes. *Neurología. Suplementos*, 3(8), 42-48.
- Fan, X., Miles, J. H., Takahashi, N., & Yao, G. (2009). Abnormal transient pupillary light reflex in individuals with autism spectrum disorders. *Journal of autism and developmental disorders*, 39(11), 1499-1508. doi:10.1007/s10803-009-0767-7
- Felleman, D. J., & Van Essen, D. C. (1991). Distributed Hierarchical Processing in the Primate Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex*, 1(1), 1-47. doi:10.1093/cercor/1.1.1
- Field, G. D., & Chichilnisky, E. J. (2007). Information Processing in the Primate Retina: Circuitry and Coding. *Annual Review of Neuroscience*, 30(1), 1-30. doi:10.1146/annurev.neuro.30.051606.094252
- Flores-Herr, N., Protti, D. A., & Wässle, H. (2001). Synaptic Currents Generating the Inhibitory Surround of Ganglion Cells in the Mammalian Retina. *The Journal of Neuroscience*, 21(13), 4852-4863.
- Foote, S. L., Bloom, F. E., & Aston-Jones, G. (1983). Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiological Reviews*, 63(3), 844-914.

- Fotiou, D., Brozou, C., Tsiptsios, D., Fotiou, A., Kabitsi, A., Nakou, M., ... Goula, A. (2007). Effect of age on pupillary light reflex: evaluation of pupil mobility for clinical practice and research. *Electromyography and clinical neurophysiology*, 47(1), 11-22.
- Fountoulakis, K., Fotiou, F., Iacovides, A., Tsiptsios, J., Goulas, A., Tsolaki, M., & Ierodiakonou, C. (1999). Changes in pupil reaction to light in melancholic patients. *International Journal of Psychophysiology*, 31(2), 121-128. doi:10.1016/S0167-8760(98)00046-4
- Frost, S. M., Kanagasingam, Y., Sohrabi, H. R., Taddei, K., Bateman, R., Morris, J., ... Martins, R. N. (2013). Pupil Response Biomarkers Distinguish Amyloid Precursor Protein Mutation Carriers from Non-Carriers. *Current Alzheimer Research*, 10(8), 790-796. doi:10.2174/15672050113109990154
- Fu, Y., Yu, S., Ma, Y., Wang, Y., & Zhou, Y. (2013). Functional Degradation of the Primary Visual Cortex During Early Senescence in Rhesus Monkeys. *Cerebral Cortex*, 23(12), 2923-2931. doi:10.1093/cercor/bhs282
- Gamlin, P. D. R. (1999). Subcortical neural circuits for ocular accommodation and vergence in primates. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 19(2), 81-89. doi:10.1046/j.1475-1313.1999.00434.x
- Gamlin, P. D. R., McDougal, D. H., Pokorny, J., Smith, V. C., Yau, K.-W., & Dacey, D. M. (2007). Human and macaque pupil responses driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Vision Research*, 47(7), 946-954. doi:10.1016/j.visres.2006.12.015
- Gibbins, I. (2013). Functional organization of autonomic neural pathways. *Organogenesis*, 9(3), 169-175. doi:10.4161/org.25126
- Giza, E., Fotiou, D., Bostantjopoulou, S., Katsarou, Z., Gerasimou, G., Gotzamani-Psarrakou, A., & Karlovasitou, A. (2012). Pupillometry and 123I-DaTSCAN imaging in Parkinson's Disease: A Comparison Study. *International Journal of Neuroscience*, 122(1), 26-34. doi:10.3109/00207454.2011.619285
- Giza, E., Fotiou, D., Bostantjopoulou, S., Katsarou, Z., & Karlovasitou, A. (2011). Pupil Light Reflex in Parkinson's Disease: Evaluation With Pupillometry. *International Journal of Neuroscience*, 121(1), 37-43. doi:10.3109/00207454.2010.526730
- Goodale, M. A., Milner, A. D., Jakobson, L. S., & Carey, D. P. (1991). A neurological dissociation between perceiving objects and grasping them. *Nature*, 349(6305), 154-156. doi:10.1038/349154a0

- Granholm, E., Morris, S., Galasko, D., Shults, C., Rogers, E., & Vukov, B. (2003). Tropicamide effects on pupil size and pupillary light reflexes in Alzheimer's and Parkinson's disease. *International Journal of Psychophysiology*, 47(2), 95-115. doi:10.1016/S0167-8760(02)00122-8
- Granholm, E., & Steinhauer, S. R. (2004). Pupillometric measures of cognitive and emotional processes. *Pupillometric Measures of Cognitive and Emotional Processes*, 52(1), 1-6. doi:10.1016/j.ijpsycho.2003.12.001
- Gredebäck, G., & Melinder, A. (2011). Teleological reasoning in 4-month-old infants: pupil dilations and contextual constraints. *PloS one*, 6(10), e26487. doi:10.1371/journal.pone.0026487
- Grill-Spector, K., Kourtzi, Z., & Kanwisher, N. (2001). The lateral occipital complex and its role in object recognition. *Vision Research*, 41(10–11), 1409-1422. doi:10.1016/S0042-6989(01)00073-6
- Gruber, N., Mosimann, U. P., Müri, R. M., & Nef, T. (2012). Vision and Night Driving Abilities of Elderly Drivers. *Traffic Injury Prevention*, 14(5), 477-485. doi:10.1080/15389588.2012.727510
- Gundersen, H., van Wageningen, H., & Grüner, R. (2013). Alcohol-Induced Changes in Cerebral Blood Flow and Cerebral Blood Volume in Social Drinkers. *Alcohol and Alcoholism*, 48(2), 160-165. doi:10.1093/alcalc/ags121
- Hadziefendic, S., & Haxhiu, M. A. (1999). CNS innervation of vagal preganglionic neurons controlling peripheral airways: a transneuronal labeling study using pseudorabies virus. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 76(2–3), 135-145. doi:10.1016/S0165-1838(99)00020-X
- Harley, C. W. (2007). Norepinephrine and the dentate gyrus. En Helen E. Scharfman (Ed.), *Progress in Brain Research* (Vol. Volume 163, pp. 299-318). Elsevier. Recuperado a partir de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612307630180>
- Harrington, L., Klintworth, G. K., Secor, T. E., & Breitman, M. L. (1991). Developmental analysis of ocular morphogenesis in α A-crystallin/diphtheria toxin transgenic mice undergoing ablation of the lens. *Developmental Biology*, 148(2), 508-516. doi:10.1016/0012-1606(91)90269-9
- Harwerth, R. S., Wheat, J. L., & Rangaswamy, N. V. (2008). Age-Related Losses of Retinal Ganglion Cells and Axons. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(10), 4437-4443. doi:10.1167/iovs.08-1753

- Hatori, M., & Panda, S. (2010). The emerging roles of melanopsin in behavioral adaptation to light. *Trends in Molecular Medicine*, 16(10), 435-446. doi:10.1016/j.molmed.2010.07.005
- Hattar, S., Liao, H.-W., Takao, M., Berson, D. M., & Yau, K.-W. (2002). Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells: Architecture, Projections, and Intrinsic Photosensitivity. *Science*, 295(5557), 1065-1070. doi:10.1126/science.1069609
- Haw, W. W., & Manche, E. E. (2001). Effect of preoperative pupil measurements on glare, halos, and visual function after photoastigmatic refractive keratectomy. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 27(6), 907-916. doi:10.1016/S0886-3350(01)00871-9
- Hayashi, N., Someya, N., & Fukuba, Y. (2010). Effect of intensity of dynamic exercise on pupil diameter in humans. *Journal of physiological anthropology*, 29(3), 119-122. doi:http://dx.doi.org/10.2114/jpa2.29.119
- Heitz, R. P., Schrock, J. C., Payne, T. W., & Engle, R. W. (2008). Effects of incentive on working memory capacity: Behavioral and pupillometric data. *Psychophysiology*, 45(1), 119-129. doi:10.1111/j.1469-8986.2007.00605.x
- Heller, P. H., Perry, F., Jewett, D. L., & Levine, J. D. (1990). Autonomic components of the human pupillary light reflex. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 31(1), 156-162.
- Hemmings, H. C. J., Akabas, M. H., Goldstein, P. A., Trudell, J. R., Orser, B. A., & Harrison, N. L. (2005). Emerging molecular mechanisms of general anesthetic action. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26(10), 503-510. doi:10.1016/j.tips.2005.08.006
- Hendry, S., & Yoshioka, T. (1994). A neurochemically distinct third channel in the macaque dorsal lateral geniculate nucleus. *Science*, 264(5158), 575-577. doi:10.1126/science.8160015
- Herbst, K., Sander, B., Lund-Andersen, H., Broendsted, A., Kessel, L., Hansen, M., & Kawasaki, A. (2012). Intrinsically photosensitive retinal ganglion cell function in relation to age: A pupillometric study in humans with special reference to the age-related optic properties of the lens. *BMC Ophthalmology*, 12(1), 4. doi:10.1186/1471-2415-12-4
- Herbst, K., Sander, B., Milea, D., Lund-Andersen, H., & Kawasaki, A. (2011). Test-retest repeatability of the pupil light response to blue and red light stimuli in

- normal human eyes using a novel pupillometer. *Front Neurol*, 2, 10. doi:doi:10.3389/fneur.2011.00010
- Hill, J. C., & Toffolon, G. (1990). Effect of alcohol on sensory and sensorimotor visual functions. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 51(2), 108.
- Hirsch, J., & Curcio, C. A. (1989). The spatial resolution capacity of human foveal retina. *Vision Research*, 29(9), 1095-1101. doi:10.1016/0042-6989(89)90058-8
- Ho, L., Harvey, T., Scherer, J., Balasubramaniam, M., Dhaliwal, D., & Mah, F. (2010). Comparison of Rosenbaum pupillometry card using red and blue light to Colvard and Iowa pupillometers. *Journal of refractive surgery (Thorofare, N.J. : 1995)*, 26(7), 498-504. doi:10.3928/1081597X-20090814-03
- Hong, S., Narkiewicz, J., & Kardon, R. H. (2001). Comparison of Pupil Perimetry and Visual Perimetry in Normal Eyes: Decibel Sensitivity and Variability. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42(5), 957-965.
- Horton, J. C., & Hoyt, W. F. (1991). The representation of the visual field in human striate cortex: a revision of the classic Holmes map. *Archives of ophthalmology*, 109(6), 816-824.
- Hubel, D. H., & Wiesel, T. N. (1962). Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *The Journal of physiology*, 160(1), 106.
- Hughes, S., Hankins, M. W., Foster, R. G., & Peirson, S. N. (2012). Chapter 2 - Melanopsin phototransduction: Slowly emerging from the dark. En M. M., Till Roenneberg and Russell G. Foster Andries Kalsbeek (Ed.), *Progress in Brain Research* (Vol. Volume 199, pp. 19-40). Elsevier. Recuperado a partir de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444594273000022>
- Hunter, J. ., Milton, J. ., Lüdtke, H., Wilhelm, B., & Wilhelm, H. (2000). Spontaneous fluctuations in pupil size are not triggered by lens accommodation. *Vision Research*, 40(5), 567-573. doi:10.1016/S0042-6989(99)00200-X
- Ignacio García, J., Almenara Barrios, J., & Hita Iglesias, C. (2002). [Influence of asthma inhalers on a breath alcohol test]. *Medicina clinica*, 118(9), 332-334. doi:10.1016/S0025-7753(02)72377-4
- INSHT. (s.f.). *Iluminación en el puesto de trabajo. Criterios para su evaluación y acondicionamiento* (p. 58). Madrid: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Recuperado a partir de

<http://www.insht.es/Ergonomia2/Contenidos/Promocionales/Iluminacion/ficheros/IluminacionPuestosTrabajoN.pdf>

- INTCF. (2012). *Víctimas mortales en Accidentes de Tráfico. Año 2011* (p. 54). Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Ministerio de Justicia. Gobierno de España.
- INTCF. (2013). *Víctimas mortales en Accidentes de Tráfico. Año 2012* (p. 54). Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Ministerio de Justicia. Gobierno de España.
- Inzelberge, R., Feiler, V., & Korzcyn, A. . (1997). The tropicamide eye drop test in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 3(4), 215-218. doi:10.1016/S1353-8020(97)00023-0
- Ishikawa, H., Onodera, A., Asakawa, K., Nakadomari, S., & Shimizu, K. (2012). Effects of selective-wavelength block filters on pupillary light reflex under red and blue light stimuli. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 56(2), 181-186. doi:10.1007/s10384-011-0116-1
- Iskander, D. R., Collins, M. J., Mioschek, S., & Trunk, M. (2004). Automatic pupillometry from digital images. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 51(9), 1619-1627. doi:10.1109/TBME.2004.827546
- Jacobs, B. L. (1986). Single unit activity of locus coeruleus neurons in behaving animals. *Progress in Neurobiology*, 27(2), 183-194. doi:10.1016/0301-0082(86)90008-0
- Jacobson, D. M. (1998). Pupil involvement in patients with diabetes-associated oculomotor nerve palsy. *Archives of ophthalmology*, 116(6), 723. doi:10.1001/archophth.116.6.723
- Jain, S., Siegle, G., Gu, C., Moore, C., Ivanco, L., Jennings, J., ... Greenamyre, J. (2011). Autonomic insufficiency in pupillary and cardiovascular systems in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 17(2), 119-122. doi:10.1016/j.parkreldis.2010.11.005
- Jänig, W. (2014). Sympathetic nervous system and inflammation: A conceptual view. *Autonomic neuroscience: basic & clinical*. Recuperado a partir de <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S156607021400006X?showall=true>
- Johnston, K. D., & Timney, B. (2008). Effects of acute ethyl alcohol consumption on a psychophysical measure of lateral inhibition in human vision. *Vision Research*, 48(14), 1539-1544. doi:10.1016/j.visres.2008.04.010

- Johnston, K., & Timney, B. (2013). Alcohol and lateral inhibitory interactions in human vision. *Perception*, 42, 1301-1310.
- Jomier, J., Rault, E., & Aylward, S. R. (2004). Automatic quantification of pupil dilation under stress. *Biomedical Imaging: Nano to Macro, 2004. IEEE International Symposium on*, 249-252 Vol. 1. doi:10.1109/ISBI.2004.1398521
- Jonas, J. B., Gusek, G. C., & Naumann, G. O. (1988). Optic disc, cup and neuroretinal rim size, configuration and correlations in normal eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 29(7), 1151-1158.
- Jones, R. (1990). Do women and myopes have larger pupils? *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 31(7), 1413-1415.
- Just, M. A., & Carpenter, P. A. (1993). The intensity dimension of thought: pupillometric indices of sentence processing. *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale*, 47(2), 310.
- Kahneman, D., Tursky, B., Shapiro, D., & Crider, A. (1969). Pupillary, heart rate, and skin resistance changes during a mental task. *Journal of Experimental Psychology*, 79(1, Pt.1), 164-167. doi:10.1037/h0026952
- Kahnemann, D., & Beatty, J. (1967). Pupillary responses in a pitch-discrimination task. *Perception & Psychophysics*, 2(3), 101-105. doi:10.3758/BF03210302
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2000). *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill.
- Kankipati, L., Girkin, C. A., & Gamlin, P. D. (2010). Post-illumination Pupil Response in Subjects without Ocular Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(5), 2764-2769. doi:10.1167/iovs.09-4717
- Kankipati, L., Girkin, C. A., & Gamlin, P. D. (2011). The Post-Illumination Pupil Response Is Reduced in Glaucoma Patients. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(5), 2287-2292. doi:10.1167/iovs.10-6023
- Kanwisher, N., McDermott, J., & Chun, M. M. (1997). The Fusiform Face Area: A Module in Human Extrastriate Cortex Specialized for Face Perception. *The Journal of Neuroscience*, 17(11), 4302-4311.
- Kaplan, E., & Shapley, R. M. (1986). The primate retina contains two types of ganglion cells, with high and low contrast sensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(8), 2755-2757.

- Kara, K., Dursun, K., Erdem, U., Congologlu, M., Durukan, I., & Ilhan, A. (2013). Investigation of autonomic nervous system functions by pupillometry in children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 23(1), 49-56. doi:10.5455/bcp.2012113008585
- Karavanaki, K., Davies, A., Hunt, L., Morgan, M., & Baum, J. (1994). Pupil size in diabetes. *Archives of disease in childhood*, 71(6), 511-515.
- Kardon, R., Kawasaki, A., & Miller, N. R. (2006). Origin of the Relative Afferent Pupillary Defect in Optic Tract Lesions. *Ophthalmology*, 113(8), 1345-1353.
- Kasthurirangan, S., & Glasser, A. (2005). Characteristics of pupil responses during far-to-near and near-to-far accommodation. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 25(4), 328-339. doi:10.1111/j.1475-1313.2005.00293.x
- Kaur, J., Kukreja, S., Kaur, A., Malhotra, N., & Kaur, R. (2012). The oxidative stress in cataract patients. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 6(10), 1629-1632. doi:10.7860/JCDR/2012/4856.2626
- Kawasaki, A., Moore, P., & Kardon, R. H. (1995). Variability of the relative afferent pupillary defect. *American journal of ophthalmology*, 120(5), 622-633.
- Kawasaki, A., Moore, P., & Kardon, R. H. (1996). Long-term fluctuation of relative afferent pupillary defect in subjects with normal visual function. *American journal of ophthalmology*, 122(6), 875-882.
- Keast, J. R. (1999). Unusual Autonomic Ganglia: Connections, Chemistry, and Plasticity of Pelvic Ganglia. En Kwang W. Jeon (Ed.), *International Review of Cytology* (Vol. Volume 193, pp. 1-69). Academic Press. Recuperado a partir de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0074769608617787>
- Khan, S. A., & Timney, B. (2007a). Alcohol does not affect dark adaptation or luminance increment thresholds. *Journal of studies on alcohol and drugs*, 68(4), 493.
- Khan, S. A., & Timney, B. (2007b). Alcohol slows interhemispheric transmission, increases the flash-lag effect, and prolongs masking: Evidence for a slowing of neural processing and transmission. *Vision Research*, 47(13), 1821-1832. doi:10.1016/j.visres.2007.03.008
- Kim, M., Beversdorf, D. Q., & Heilman, K. M. (2000). Arousal response with aging: Pupillographic study. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 6(03), 348-350.

- Kobashi, H., Kamiya, K., Ishikawa, H., Goseki, T., & Shimizu, K. (2012). Daytime Variations in Pupil Size Under Photopic Conditions. *Optometry & Vision Science*, 89(2), 197-202. doi:10.1097/OPX.0b013e31824048a9.
- Koh, K.-M., & Kim, U. S. (2013). Characteristics of pupillo-accommodative functions according to time of onset, gender and age in tonic pupil. *International journal of ophthalmology*, 6(5), 659.
- Kong, L. M., Zheng, W. B., Lian, G. P., & Zhang, H. D. (2012). Acute Effects of Alcohol on the Human Brain: Diffusion Tensor Imaging Study. *American Journal of Neuroradiology*, 33(5), 928-934. doi:10.3174/ajnr.A2873
- Korpelainen, J., Sotaniemi, K., & Myllylä, V. (1999). Autonomic nervous system disorders in stroke. *Clinical Autonomic Research*, 9(6), 325-333. doi:10.1007/BF02318379
- Kovacevic, S., Azma, S., Irimia, A., Sherfey, J., Halgren, E., & Marinkovic, K. (2012). Theta oscillations are sensitive to both early and late conflict processing stages: effects of alcohol intoxication. *PloS one*, 7(8), e43957. doi:10.1371/journal.pone.0043957
- Kozicz, T., Bittencourt, J. C., May, P. J., Reiner, A., Gamlin, P. D. R., Palkovits, M., ... Ryabinin, A. E. (2011). The Edinger-Westphal nucleus: A historical, structural, and functional perspective on a dichotomous terminology. *The Journal of Comparative Neurology*, 519(8), 1413-1434. doi:10.1002/cne.22580
- Kupfer, C., Chumbley, L., & Downer, J. de C. (1967). Quantitative histology of optic nerve, optic tract and lateral geniculate nucleus of man. *Journal of anatomy*, 101(Pt 3), 393.
- Kwon, H. J., & Kim, H. Y. (2009). A Pharmacologic Pupillary Test in the Diagnosis of Diabetic Autonomic Neuropathy. *Korean J Ophthalmol*, 23(4), 291-295.
- Laeng, B., Sirois, S., & Gredebäck, G. (2012). Pupillometry: A Window to the Preconscious? *Perspectives on Psychological Science*, 7(1), 18-27. doi:10.1177/1745691611427305
- Lagrèze, W.-D. A., & Kardon, R. H. (1998). Correlation of relative afferent pupillary defect and estimated retinal ganglion cell loss. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 236(6), 401-404. doi:10.1007/s004170050096
- Lam, B. L., & Thompson, H. S. (1990). A unilateral cataract produces a relative afferent pupillary defect in the contralateral eye. *Ophthalmology*, 97(3), 334-338.

- Lam, P. T. H., Chan, C. K. M., Rao, S. K., Fan, D. S. P., & Lam, D. S. C. (2010). Randomized Clinical Trial on the Efficacy and Side Effects of Tropicamide and Phenylephrine in Mydriasis for Ophthalmoscopy. *Journal of Optometry*, 3(1), 37-43. doi:10.3921/joptom.2010.37
- Langford, J., & Koppel, S. (2006). Epidemiology of older driver crashes – Identifying older driver risk factors and exposure patterns. *Older drivers' safety and mobility: Current and future issues*, 9(5), 309-321. doi:10.1016/j.trf.2006.03.005
- Léon, L., Crippa, S. V., Borruat, F.-X., & Kawasaki, A. (2012). Differential effect of long versus short wavelength light exposure on pupillary re-dilation in patients with outer retinal disease. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 40(1), e16-e24. doi:10.1111/j.1442-9071.2011.02665.x
- Leon-Sarmiento, F. E., Prada, D. G., & Gutiérrez, C. (2008). Pupila, pupilometría y pupilografía. *Acta Neurol Colomb*, 24(4), 188-197.
- Leopold, D. A. (2012). Primary Visual Cortex: Awareness and Blindsight*. *Annual Review of Neuroscience*, 35(1), 91-109. doi:10.1146/annurev-neuro-062111-150356
- Leung, C. K., Cheung, C. Y. L., Li, H., Dorairaj, S., Yiu, C. K. F., Wong, A. L., ... Lam, D. S. C. (2007). Dynamic Analysis of Dark–Light Changes of the Anterior Chamber Angle with Anterior Segment OCT. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(9), 4116-4122. doi:10.1167/iov.07-0010
- Levatin, P. (1959). Pupillary escape in disease of the retina or optic nerve. *AMA Archives of Ophthalmology*, 62(5), 768-779.
- Liang, J., & Williams, D. R. (1997). Aberrations and retinal image quality of the normal human eye. *JOSA A*, 14(11), 2873-2883.
- Li, M., He, H. G., Shi, W., Li, J., Lv, B., Wang, C. H., ... Sabel, B. A. (2012). Quantification of the Human Lateral Geniculate Nucleus In Vivo Using MR Imaging Based on Morphometry: Volume Loss with Age. *American Journal of Neuroradiology*, 33(5), 915-921. doi:10.3174/ajnr.A2884
- Liu, Y., Liu, D. N., Meng, X. H., & Yin, Z. Q. (2011). Transient Pupillary Light Reflex in Relation to Fundus Autofluorescence and Dark-Adapted Perimetry in Typical Retinitis Pigmentosa. *Ophthalmic Research*, 47(3), 113-121. doi:10.1159/000330049

- Livingstone, M., & Hubel, D. (1988). Segregation of form, color, movement, and depth: anatomy, physiology, and perception. *Science*, 240(4853), 740-749. doi:10.1126/science.3283936
- Livingstone, M. S., & Hubel, D. H. (1983). Specificity of cortico-cortical connections in monkey visual system. *Nature*, 304(5926), 531-534.
- Lobato-Rincón, L.-L., CabanillasnCampos, M. C., Navarro-Valls, J. J., Bonnin-Arias, C., Chamorro, E., & Sánchez-Ramos Roda, C. (2013). Utilidad de la pupilometría dinámica en el control de la alcoholemia de los conductores. *Adicciones*, 25(2), 137-145.
- Loewy, A. D. (1991). Forebrain nuclei involved in autonomic control. *Progress in brain research*, 87, 253.
- Loewy, A. D., & Saper, C. B. (1978). Edinger-Westphal nucleus: Projections to the brain stem and spinal cord in the cat. *Brain Research*, 150(1), 1-27. doi:10.1016/0006-8993(78)90650-9
- Lovinger, D. M. (1999). 5-HT₃ receptors and the neural actions of alcohols: an increasingly exciting topic. *Neurochemistry International*, 35(2), 125-130. doi:10.1016/S0197-0186(99)00054-6
- Lovinger, D. M. (2008). Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Research & Health*, 31(3), 196.
- Lovinger, D. M., & Homanics, G. E. (2007). Tonic for what ails us? high-affinity GABAA receptors and alcohol. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 41(3), 139-143.
- Lovinger, D. M., & Roberto, M. (2013). Synaptic effects induced by alcohol. En *Behavioral Neurobiology of Alcohol Addiction* (Sommer, W.; Spanagel, R., pp. 31-86). Springer.
- Lowenstein, O., & Loewenfeld, I. E. (1958). Electronic pupillography: a new instrument and some clinical applications. *AMA archives of ophthalmology*, 59(3), 352-363. doi:10.1001/archopht.1958.00940040058007
- Lucas, R. J., Douglas, R. H., & Foster, R. G. (2001). Characterization of an ocular photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. *Nat Neurosci*, 4(6), 621-626. doi:10.1038/88443
- Lucas, R. J., Peirson, S. N., Berson, D. M., Brown, T. M., Cooper, H. M., Czeisler, C. A., ... Brainard, G. C. (2014). Measuring and using light in the melanopsin age. *Trends in Neurosciences*, 37(1), 1-9. doi:10.1016/j.tins.2013.10.004

- Luchtman, M., Jachau, K., Adolf, D., Baecke, S., Lützkendorf, R., Müller, C., ... Bernarding, J. (2013). Decreased effective connectivity in the visuomotor system after alcohol consumption. *Alcohol*, 47(3), 195-202. doi:10.1016/j.alcohol.2013.01.002
- Ludwig, F. C., & Smoke, M. E. (1980). The measurement of biological age. *Experimental Aging Research*, 6(6), 497-522. doi:10.1080/03610738008258384
- Maguire, A. M., Craig, M. E., Craighead, A., Chan, A. K. F., Cusumano, J. M., Hing, S. J., ... Donaghue, K. C. (2007). Autonomic Nerve Testing Predicts the Development of Complications: A 12-year follow-up study. *Diabetes Care*, 30(1), 77-82. doi:10.2337/dc06-0793
- Malpas, S. C. (2002). Neural influences on cardiovascular variability: possibilities and pitfalls. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 282(1), H6-H20.
- Mathôt, S., Van der Linden, L., Grainger, J., & Vitu, F. (2013). The pupillary light response reveals the focus of covert visual attention. *PloS one*, 8(10), e78168. doi:10.1371/journal.pone.0078168
- Maurice, D. M. (1970). The transparency of the corneal stroma. *Vision Research*, 10(1), 107-108. doi:10.1016/0042-6989(70)90068-4
- McCormick, A., Bhola, R., Brown, L., Squirrel, D., Giles, J., & Pepper, I. (2002). Quantifying relative afferent pupillary defects using a Sbisabar. *British Journal of Ophthalmology*, 86(9), 985-987. doi:10.1136/bjo.86.9.985
- McDougal, D. H., & Gamlin, P. D. (2010). The influence of intrinsically-photosensitive retinal ganglion cells on the spectral sensitivity and response dynamics of the human pupillary light reflex. *Vision Research*, 50(1), 72-87. doi:10.1016/j.visres.2009.10.012
- McIntyre, C. K., McGaugh, J. L., & Williams, C. L. (2012). Interacting brain systems modulate memory consolidation. *Memory Formation*, 36(7), 1750-1762. doi:10.1016/j.neubiorev.2011.11.001
- McKinney, A., Coyle, K., & Verster, J. (2012). Direct comparison of the cognitive effects of acute alcohol with the morning after a normal night's drinking. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 27(3), 295-304. doi:10.1002/hup.2225

- McKnight, A. J., Langston, E. A., Marques, P. R., & Tippetts, A. S. (1997). Estimating blood alcohol level from observable signs. *Accident Analysis & Prevention*, 29(2), 247-255. doi:10.1016/S0001-4575(96)00079-6
- McKnight, A. J., Langston, E. A., McKnight, A. S., & Lange, J. E. (2002). Sobriety tests for low blood alcohol concentrations. *Accident Analysis & Prevention*, 34(3), 305-311. doi:10.1016/S0001-4575(01)00027-6
- Miller, S. D., & Thompson, H. S. (1978). Edge-light pupil cycle time. *British Journal of Ophthalmology*, 62(7), 495-500. doi:10.1136/bjo.62.7.495
- Möhler, H. (2006). GABAA Receptors in Central Nervous System Disease: Anxiety, Epilepsy, and Insomnia. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 26(5-6), 731-740. doi:10.1080/10799890600920035
- Monticelli, F. C., Tutsch-Bauer, E., Hitzl, W., & Keller, T. (2009). Pupil function as a parameter for assessing impairment of the central nervous system from a traffic-medicine perspective. *Selected papers from the 7th International Symposium ADVANCES IN LEGAL MEDICINE (ISALM) 7th International Symposium ADVANCES IN LEGAL MEDICINE (ISALM)*, 11, Supplement 1(0), S331-S332. doi:10.1016/j.legalmed.2009.02.009
- Moore, R. Y. (1973). Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Research*, 49(2), 403-409. doi:10.1016/0006-8993(73)90431-9
- Moro, S. I., Rodriguez-Carmona, M. L., Frost, E. C., Plant, G. T., & Barbur, J. L. (2007). Recovery of vision and pupil responses in optic neuritis and multiple sclerosis. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 27(5), 451-460. doi:10.1111/j.1475-1313.2007.00501.x
- Möykkynen, T., & Korpi, E. R. (2012). Acute Effects of Ethanol on Glutamate Receptors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 111(1), 4-13. doi:10.1111/j.1742-7843.2012.00879.x
- Mukherjee, S., & Vernino, S. (2007). Dysfunction of the pupillary light reflex in experimental autoimmune autonomic ganglionopathy. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*, 137(1), 19-26. doi:10.1016/j.autneu.2007.05.005
- Muppidi, S., Scribner, M., Gibbons, C. H., Adams-Huet, B., Spaeth, E. B., & Vernino, S. (2012). A Unique Manifestation of Pupillary Fatigue in Autoimmune Autonomic Ganglionopathy. *ARCH NEUROL*, 69(5). doi:10.1001/archneurol.2011.2143

- Mure, L. S., Cornut, P.-L., Rieux, C., Drouyer, E., Denis, P., Gronfier, C., & Cooper, H. M. (2009). Melanopsin bistability: a fly's eye technology in the human retina. *PLoS One*, 4(6), e5991. doi:10.1371/journal.pone.0005991
- Navarro, X. (2002). Fisiología del sistema nervioso autónomo. *Revista Neurológica*, 35, 553-562.
- Neufeld, A. H., & Gachie, E. N. (2003). The inherent, age-dependent loss of retinal ganglion cells is related to the lifespan of the species. *Neurobiology of aging*, 24(1), 167-172.
- Neuhuber, W., & Schrödl, F. (2011). Autonomic control of the eye and the iris. *Comparative Physiology of the Autonomic Nervous System*, 165(1), 67-79. doi:10.1016/j.autneu.2010.10.004
- Nilsson, S. (2011). Comparative anatomy of the autonomic nervous system. *Comparative Physiology of the Autonomic Nervous System*, 165(1), 3-9. doi:10.1016/j.autneu.2010.03.018
- Nischler, C., Michael, R., Wintersteller, C., Marvan, P., Emesz, M., Van Rijn, L. J., ... Barraquer, R. I. (2010). Cataract and pseudophakia in elderly European drivers. *Eur J Ophthalmol*, 20, 892-901.
- Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Crimen. (2013). *World Drug Report 2013* (p. 151). Viena: United Nations.
- Ogden, E. J. D., & Moskowitz, H. (2004). Effects of Alcohol and Other Drugs on Driver Performance. *Traffic Injury Prevention*, 5(3), 185-198. doi:10.1080/15389580490465201
- Okamoto, T., Harnett, M. T., & Morikawa, H. (2006). Hyperpolarization-activated cation current (I_h) is an ethanol target in midbrain dopamine neurons of mice. *Journal of neurophysiology*, 95(2), 619. doi:10.1152/jn.00682.2005
- Organización Mundial de la Salud. (2010). *Estrategia mundial para reducir el uso nocivo del alcohol* (Biblioteca de la OMS.). Ginebra.
- Oshika, T., Klyce, S. D., Applegate, R. A., & Howland, H. C. (1999). Changes in corneal wavefront aberrations with aging. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40(7), 1351-1355.
- Padula, C. B., Simmons, A. N., Matthews, S. C., Robinson, S. K., Tapert, S. F., Schuckit, M. A., & Paulus, M. P. (2011). Alcohol Attenuates Activation in the

- Bilateral Anterior Insula during an Emotional Processing Task: A Pilot Study. *Alcohol and Alcoholism*, 46(5), 547-552. doi:10.1093/alcalc/agr066
- Palkovits, M. (1999). Interconnections between the Neuroendocrine Hypothalamus and the Central Autonomic System: Geoffrey Harris Memorial Lecture, Kitakyushu, Japan, October 1998. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 20(4), 270-295. doi:10.1006/frne.1999.0186
- Petrash, J. M. (2013). Aging and Age-Related Diseases of the Ocular Lens and Vitreous Body. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(14), ORSF54-ORSF59. doi:10.1167/iovs.13-12940
- Piazza, J. R., Almeida, D. M., Dmitrieva, N. O., & Klein, L. C. (2010). Frontiers in the Use of Biomarkers of Health in Research on Stress and Aging. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 65B(5), 513-525. doi:10.1093/geronb/gbq049
- Pickworth, W. B., & Murillo, R. (2007). Pupillometry and Eye Tracking as Predictive Measures of Drug Abuse. En *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Abused Drugs* (Vol. En Steven V. Karch, pp. 127-142). CRC Press.
- Poli, A., Marangoni, F., Avogaro, A., Barba, G., Bellentani, S., Bucci, M., ... Visioli, F. (2013). Moderate alcohol use and health: A consensus document. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 23(6), 487-504.
- Pollard, J., Nadler, E., & Stearns, M. (2007). *Review of technology to prevent alcohol-impaired crashes(TOPIC)* (p. 108). Cambridge (USA): U.S. Department of Transportation. National Highway Traffic Safety Administration.
- Prasad, S., & Galetta, S. L. (2011). Anatomy and physiology of the afferent visual system. *Handb Clin Neurol*, 102, 3-19.
- Prettyman, R., Bitsios, P., & Szabadi, E. (1997). Altered pupillary size and darkness and light reflexes in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 62(6), 665-668. doi:10.1136/jnnp.62.6.665
- Price, M. J., Thompson, H. S., Judisch, G. F., & Corbett, J. J. (1985). Pupillary constriction to darkness. *British Journal of Ophthalmology*, 69(3), 205-211. doi:10.1136/bjo.69.3.205
- Privitera, C. M., Renninger, L. W., Carney, T., Klein, S., & Aguilar, M. (2010). Pupil dilation during visual target detection. *Journal of Vision*, 10(10). doi:10.1167/10.10.3

- Privitera, C., & Stark, L. (2006). A Binocular Pupil Model for Simulation of Relative Afferent Pupil Defects and the Swinging Flashlight Test. *Biological Cybernetics*, 94(3), 215-224. doi:10.1007/s00422-005-0042-8
- Prokofyeva, E., Wegener, A., & Zrenner, E. (2013). Cataract prevalence and prevention in Europe: a literature review. *Acta Ophthalmologica*, 91(5), 395-405. doi:10.1111/j.1755-3768.2012.02444.x
- Provencio, I., Rodriguez, I. R., Jiang, G., Hayes, W. P., Moreira, E. F., & Rollag, M. D. (2000). A novel human opsin in the inner retina. *The journal of Neuroscience*, 20(2), 600-605.
- Quigley, H., Addicks, E., & Green, W. (1982). Optic Nerve Damage in Human Glaucoma: III. Quantitative Correlation of Nerve Fiber Loss and Visual Field Defect in Glaucoma, Ischemic Neuropathy, Papilledema, and Toxic Neuropathy. *Archives of Ophthalmology*, 100(1), 135-146. doi:doi:10.1001/archopht.1982.01030030137016
- Quintyn, J.-C., Massy, J., Quillard, M., & Brasseur, G. (1999). Effects of low alcohol consumption on visual evoked potential, visual field and visual contrast sensitivity. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 77(1), 23-26. doi:10.1034/j.1600-0420.1999.770105.x
- Ramsay, A., Williamson, T. H., Parks, S., & Keating, D. (1995). Crossed polarising filters to measure relative afferent pupillary defects: reproducibility, correlation with neutral density filters and use in central retinal vein occlusion. *Eye*, 9(5), 624-628.
- Rasia-Filho, A. A. (2006). Is there anything «autonomous» in the nervous system? *Advances in Physiology Education*, 30(1), 9-12. doi:10.1152/advan.00022.2005
- Raz, N., Gunning-Dixon, F., Head, D., Rodrigue, K. M., Williamson, A., & Acker, J. D. (2004). Aging, sexual dimorphism, and hemispheric asymmetry of the cerebral cortex: replicability of regional differences in volume. *Neurobiology of aging*, 25(3), 377-396.
- Rehm, J., Mathers, C., Popova, S., Thavorncharoensap, M., Teerawattananon, Y., & Patra, J. (2009). Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. *The Lancet*, 373(9682), 2223-2233.
- Rehm, J., Zatonksi, W., Taylor, B., & Anderson, P. (2011). Epidemiology and alcohol policy in Europe. *Addiction*, 106, 11-19. doi:10.1111/j.1360-0443.2010.03326.x

- Richards, O. (1977). Effects of luminance and contrast on visual acuity, ages 16 to 90 years. *American journal of optometry and physiological optics*, 54(3), 178-184.
- Richman, J. E., Golden McAndrew, K., Decker, D., & Mullaney, S. C. (2004). An evaluation of pupil size standards used by police officers for detecting drug impairment. *Optometry - Journal of the American Optometric Association*, 75(3), 175-182. doi:10.1016/S1529-1839(04)70037-8
- Rosa, M. G. P., Palmer, S. M., Gamberini, M., Burman, K. J., Yu, H.-H., Reser, D. H., ... Galletti, C. (2009). Connections of the Dorsomedial Visual Area: Pathways for Early Integration of Dorsal and Ventral Streams in Extrastriate Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 29(14), 4548-4563. doi:10.1523/JNEUROSCI.0529-09.2009
- Rosenberg, M. L., & Oliva, A. (1990). The use of crossed polarized filters in the measurement of the relative afferent pupillary defect. *American journal of ophthalmology*, 110(1), 62-65.
- Rosen, E. S., Gore, C. L., Taylor, D., Chitkara, D., Howes, F., & Kowalewski, E. (2002). Use of a digital infrared pupillometer to assess patient suitability for refractive surgery. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 28(8), 1433-1438. doi:10.1016/S0886-3350(01)01350-5
- Roudaia, E., Bennett, P. J., & Sekuler, A. B. (2008). The effect of aging on contour integration. *Vision Research*, 48(28), 2767-2774. doi:10.1016/j.visres.2008.07.026
- Rubin, L. S., Gottheil, E., Roberts, A., Alterman, A. I., & Holstine, J. (1977). Effects of Stress on Autonomic Reactivity in Alcoholics; Pupillometric Studies. I. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 38(11), 2036-2048.
- Rubin, L. S., Gottheil, E., Roberts, A., Alterman, A. I., & Holstine, J. (1978). Autonomic Nervous System Concomitants of Short-Term Abstinence in Alcoholics; Pupillometric Studies. II. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 39(11), 1895-1907.
- Sabeti, F., James, A. C., & Maddess, T. (2011). Spatial and temporal stimulus variants for multifocal pupillography of the central visual field. *Retinal Ganglion Cells: Development, Function, and Disease*, 51(2), 303-310. doi:10.1016/j.visres.2010.10.015
- Sagawa, K., & Takeichi, K. (1992). System of mesopic photometry for evaluating lights in terms of comparative brightness relationships. *JOSA A*, 9(8), 1240-1246.

- Sahraie, A., & Barbur, J. (1997). Pupil response triggered by the onset of coherent motion. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 235(8), 494-500. doi:10.1007/BF00947006
- Samuels, E. R., & Szabadi, E. (2008). Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part II: physiological and pharmacological manipulations and pathological alterations of locus coeruleus activity in humans. *Current neuropharmacology*, 6(3), 254. doi:10.2174/157015908785777193
- Sara, S. J., & Bouret, S. (2012). Orienting and Reorienting: The Locus Coeruleus Mediates Cognition through Arousal. *Neuron*, 76(1), 130-141. doi:10.1016/j.neuron.2012.09.011
- Schäfer, W. D., & Weale, R. A. (1970). The influence of age and retinal illumination on the pupillary near reflex. *Vision Research*, 10(2), 179-191. doi:10.1016/0042-6989(70)90114-8
- Schmäl, F., Thiede, O., & Stoll, W. (2003). Effect of Ethanol on Visual-Vestibular Interactions During Vertical Linear Body Acceleration. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27(9), 1520-1526. doi:10.1097/01.ALC.0000087085.98504.8C
- Schmidt, T. M., Do, M. T. H., Dacey, D., Lucas, R., Hattar, S., & Matynia, A. (2011). Melanopsin-Positive Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells: From Form to Function. *The Journal of Neuroscience*, 31(45), 16094-16101. doi:10.1523/JNEUROSCI.4132-11.2011
- Schmitz, S., Krummenauer, F., Henn, S., & Dick, H. B. (2003). Comparison of three different technologies for pupil diameter measurement. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 241(6), 472-477. doi:10.1007/s00417-003-0669-x
- Schmolesky, M. T., Wang, Y., Hanes, D. P., Thompson, K. G., Leutgeb, S., Schall, J. D., & Leventhal, A. G. (1998). Signal timing across the macaque visual system. *Journal of Neurophysiology*, 79(6), 3272-3278.
- Schreuder, D. (2008). *Outdoor Lighting: Physics, Vision and Perception*. Berlin: Springer.
- Sekuler, R., & Owsley, C. (1983). Visual manifestations of biological aging. *Experimental Aging Research*, 9(4), 253-255. doi:10.1080/03610738308258460

- Sekuler, R., Owsley, C., & Hutman, L. (1982). Assessing spatial vision of older people. *American journal of optometry and physiological optics*, 59(12), 961-968.
- Selemon, L. D., & Begovic', A. (2007). Stereologic analysis of the lateral geniculate nucleus of the thalamus in normal and schizophrenic subjects. *Psychiatry research*, 151(1), 1-10.
- Shams, P. N., Bremner, F. D., Smith, S. E., Plant, G. T., & Matthews, T. D. (2010). Unilateral Light-Near Dissociation in Lesions of the Rostral Midbrain. *Archives of ophthalmology*, 128(11), 1486. doi:10.1001/archophthalmol.2010.251
- Siggins, G. R., Roberto, M., & Nie, Z. (2005). The tipsy terminal: Presynaptic effects of ethanol. *Pharmacology & Therapeutics*, 107(1), 80-98. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.01.006
- Sillito, A. M., & Zbrożyna, A. W. (1970). The activity characteristics of the preganglionic pupilloconstrictor neurones. *The Journal of Physiology*, 211(3), 767-779.
- Sincich, L. C., Park, K. F., Wohlgemuth, M. J., & Horton, J. C. (2004). Bypassing V1: a direct geniculate input to area MT. *Nat Neurosci*, 7(10), 1123-1128. doi:10.1038/nn1318
- Snell, R. S. (2006). *Neroanatomia clínica* (6^o Edición.). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Spring, K. H., & Stiles, W. S. (1948). Variation of pupil size with change in the angle at which the light stimulus strikes the retina. *The British journal of ophthalmology*, 32(6), 340.
- Steinhauer, S. R., Siegle, G. J., Condray, R., & Pless, M. (2004). Sympathetic and parasympathetic innervation of pupillary dilation during sustained processing. *Pupillometric Measures of Cognitive and Emotional Processes*, 52(1), 77-86. doi:10.1016/j.ijpsycho.2003.12.005
- Stockman, A., & Sharpe, L. T. (2006). Into the twilight zone: the complexities of mesopic vision and luminous efficiency. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 26(3), 225-239. doi:10.1111/j.1475-1313.2006.00325.x
- Surakka, J., Ruutiainen, J., Romberg, A., Puukka, P., Kronholm, E., & Karanko, H. (2008). Pupillary function in early multiple sclerosis. *Clinical Autonomic Research*, 18(3), 150-154. doi:10.1007/s10286-008-0471-2
- Surmeier, D. J., Ding, J., Day, M., Wang, Z., & Shen, W. (2007). D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny

- neurons. *Fifty years of dopamine research*, 30(5), 228-235. doi:10.1016/j.tins.2007.03.008
- Szabadi, E., & Bradshaw, C. M. (1996). Autonomic pharmacology of α_2 -adrenoceptors. *Journal of Psychopharmacology*, 10(Suppl. 3), 6-18.
- Tan, L., Kondo, M., Sato, M., Kondo, N., & Miyake, Y. (2001). Multifocal pupillary light response fields in normal subjects and patients with visual field defects. *Vision Research*, 41(8), 1073-1084. doi:10.1016/S0042-6989(01)00030-X
- Taylor, B., Irving, H. M., Kanteres, F., Room, R., Borges, G., Cherpitel, C., ... Rehm, J. (2010). The more you drink, the harder you fall: A systematic review and meta-analysis of how acute alcohol consumption and injury or collision risk increase together. *Drug and Alcohol Dependence*, 110(1-2), 108-116. doi:10.1016/j.drugalcdep.2010.02.011
- Taylor, W. R., Chen, J. W., Meltzer, H., Gennarelli, T. A., Kelbch, C., Knowlton, S., ... Marshall, L. F. (2003). Quantitative pupillometry, a new technology: normative data and preliminary observations in patients with acute head injury. *Journal of Neurosurgery*, 98(1), 205-213. doi:10.3171/jns.2003.98.1.0205
- Theofilopoulos, N., McDade, G., Szabadi, E., & Bradshaw, C. (1995). Effects of reboxetine and desipramine on the kinetics of the pupillary light reflex. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 39(3), 251-255. doi:10.1111/j.1365-2125.1995.tb04444.x
- Thompson, H. S., Corbett, J. J., & Cox, T. A. (1981). How to measure the relative afferent pupillary defect. *Survey of ophthalmology*, 26(1), 39-42.
- Tiihonen, J., Kuikka, J., Hakola, P., Paanila, J., Airaksinen, J., Eronen, M., & Hallikainen, T. (1994). Acute ethanol-induced changes in cerebral blood flow. *American Journal of Psychiatry*, 151(10), 1505-1508.
- Tolhurst, D., & Ling, L. (1988). Magnification factors and the organization of the human striate cortex. *Human neurobiology*, 6(4), 247-254.
- Tootell, R., Hamilton, S., Silverman, M., & Switkes, E. (1988). Functional anatomy of macaque striate cortex. I. Ocular dominance, binocular interactions, and baseline conditions. *The Journal of Neuroscience*, 8(5), 1500-1530.
- Tootell, R., Switkes, E., Silverman, M., & Hamilton, S. (1988). Functional anatomy of macaque striate cortex. II. Retinotopic organization. *The Journal of Neuroscience*, 8(5), 1531-1568.

- Trick, G. L., & Silverman, S. E. (1991). Visual sensitivity to motion: Age-related changes and deficits in senile dementia of the Alzheimer type. *Neurology*, 41(9), 1437-1437. doi:10.1212/WNL.41.9.1437
- Tsujimura, S., Ukai, K., Ohama, D., Nuruki, A., & Yunokuchi, K. (2010). Contribution of human melanopsin retinal ganglion cells to steady-state pupil responses. *Proc Biol Sci*, 277, 2485 - 2492.
- Tsujimura, S., Wolffsohn, J. S., & Gilmartin, B. (2001). A linear chromatic mechanism drives the pupillary response. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1482), 2203-2209. doi:10.1098/rspb.2001.1775
- Unión Europea. Recomendación de la Comisión, de 17 de enero de 2001, sobre la tasa máxima de alcoholemia permitida para conductores de vehículos a motor. Diario Oficial de la Unión Europea L 43, 14 de febrero de 2001.
- Van Der Meer, E., Beyer, R., Horn, J., Foth, M., Bornemann, B., Ries, J., ... Wartenburger, I. (2010). Resource allocation and fluid intelligence: Insights from pupillometry. *Psychophysiology*, 47(1), 158-169. doi:10.1111/j.1469-8986.2009.00884.x
- Van Horn, S. C., Erişir, A., & Sherman, S. M. (2000). Relative distribution of synapses in the A-laminae of the lateral geniculate nucleus of the cat. *The Journal of Comparative Neurology*, 416(4), 509-520. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(20000124)416:4<509::AID-CNE7>3.0.CO;2-H
- Verdon, W., & Adams, A. J. (1987). Short-wavelength-sensitive cones do not contribute to mesopic luminosity. *JOSA A*, 4(1), 91-95. doi:http://dx.doi.org/10.1364/JOSAA.4.000091
- Viénot, F., Bailacq, S., & Rohellec, J. L. (2010). The effect of controlled photopigment excitations on pupil aperture. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 30(5), 484-491. doi:10.1111/j.1475-1313.2010.00754.x
- Viénot, F., Brettel, H., Dang, T.-V., & Le Rohellec, J. (2012). Domain of metamers exciting intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs) and rods. *Journal of the Optical Society of America A*, 29(2), A366-A376. doi:http://dx.doi.org/10.1364/JOSAA.29.00A366
- Viikari, M., Ekrias, A., Eloholma, M., & Halonen, L. (2008). Modeling spectral sensitivity at low light levels based on mesopic visual performance. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*, 2(1), 173-185. doi:http://dx.doi.org/10.2147/OPTH.S2414

- Volkow, N. D., Kim, S. W., Wang, G.-J., Alexoff, D., Logan, J., Muench, L., ... Tomasi, D. (2013). Acute alcohol intoxication decreases glucose metabolism but increases acetate uptake in the human brain. *NeuroImage*, 64(0), 277-283. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.08.057
- Volkow, N. D., Ma, Y., Zhu, W., Fowler, J. S., Li, J., Rao, M., ... Wang, G.-J. (2008). Moderate doses of alcohol disrupt the functional organization of the human brain. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 162(3), 205-213. doi:10.1016/j.psychresns.2007.04.010
- Walkey, H. C., Harlow, J. A., & Barbur, J. L. (2006). Changes in reaction time and search time with background luminance in the mesopic range. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 26(3), 288-299. doi:10.1111/j.1475-1313.2006.00412.x
- Wang, C.-A., Boehnke, S. E., White, B. J., & Munoz, D. P. (2012). Microstimulation of the Monkey Superior Colliculus Induces Pupil Dilation Without Evoking Saccades. *The Journal of Neuroscience*, 32(11), 3629-3636. doi:10.1523/JNEUROSCI.5512-11.2012
- Wang, G.-J., Volkow, N. D., Franceschi, D., Fowler, J. S., Thanos, P. K., Scherbaum, N., ... Felder, C. A. (2000). Regional Brain Metabolism During Alcohol Intoxication. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24(6), 822-829. doi:10.1111/j.1530-0277.2000.tb02061.x
- Warga, M., Lüdtke, H., Wilhelm, H., & Wilhelm, B. (2009). How do spontaneous pupillary oscillations in light relate to light intensity? *Vision Research*, 49(3), 295-300. doi:10.1016/j.visres.2008.09.019
- Watten, R. G., & Lie, I. (1996). Visual functions and acute ingestion of alcohol. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 16(6), 460-466. doi:10.1046/j.1475-1313.1996.96000208.x
- Wegner, A.-J., & Fahle, M. (1999). Alcohol and visual performance. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 23(3), 465-482. doi:10.1016/S0278-5846(99)00009-3
- Weiskrantz, L., Cowey, A., & Barbur, J. L. (1999). Differential pupillary constriction and awareness in the absence of striate cortex. *Brain*, 122(8), 1533-1538. doi:10.1093/brain/122.8.1533
- Wilhelm, B., Giedke, H., Lüdtke, H., Bittner, E., Hofmann, A., & Wilhelm, H. (2001). Daytime variations in central nervous system activation measured by a

- pupillographic sleepiness test. *Journal of Sleep Research*, 10(1), 1-7. doi:10.1046/j.1365-2869.2001.00239.x
- Wilhelm, B. J., Wilhelm, H., Moro, S., & Barbur, J. L. (2002). Pupil response components: studies in patients with Parinaud's syndrome. *Brain*, 125(10), 2296-2307. doi:10.1093/brain/awf232
- Wilhelm, H. (1998). Neuro-ophthalmology of pupillary function – practical guidelines. *Journal of Neurology*, 245(9), 573-583. doi:10.1007/s004150050248
- Wilhelm, H., & Wilhelm, B. (2003). Clinical Applications of Pupillography. *Journal of Neuro-Ophthalmology*, 23(1). Recuperado a partir de http://journals.lww.com/jneuro-ophthalmology/Fulltext/2003/03000/Clinical_Applications_of_Pupillography.10.aspx
- Wingate, M., Hood, B., Shi, H., & Phan, P. (1998). Automated pupil size determination for evaluating fluctuations in physiological arousal. *Signal Processing Proceedings, 1998. ICSP '98. 1998 Fourth International Conference on*, 2, 1666-1669 vol.2. doi:10.1109/ICOSP.1998.770949
- Winn, B., Whitaker, D., Elliott, D. B., & Phillips, N. J. (1994). Factors affecting light-adapted pupil size in normal human subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 35, 1132 - 1137.
- Woodward, J. J. (2000). Ethanol and NMDA Receptor Signaling, 14(1), 20. doi:10.1615/CritRevNeurobiol.v14.i1.40
- Wride, N., Habib, M., Morris, K., Campbell, S., & Fraser, S. (2009). Clinical evaluation of a rapid, pupil-based assessment of retinal damage associated with glaucoma. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*, 3, 123. doi:http://dx.doi.org/10.2147/OPTH.S4724
- Wu, J., Seregard, S., & Algvere, P. V. (2006). Photochemical Damage of the Retina. *Survey of ophthalmology*, 51(5), 461-481.
- Wyatt, H. J., & Musselman, J. F. (1981). Pupillary light reflex in humans: Evidence for an unbalanced pathway from nasal retina, and for signal cancellation in brainstem. *Vision Research*, 21(4), 513-525. doi:10.1016/0042-6989(81)90097-3
- Wyszecki, G., & Stiles, W. (2000). *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae* (2^a ed.). Nueva York: Wiley.

- Yamashita, F., Hirayama, M., Nakamura, T., Takamori, M., Hori, N., Uchida, K., ... Sobue, G. (2010). Pupillary autonomic dysfunction in multiple system atrophy and Parkinson's disease: an assessment by eye-drop tests. *Clinical Autonomic Research*, 20(3), 191-197. doi:10.1007/s10286-009-0051-0
- Yanagawa, Y., Miyazaki, M., & Sakamoto, T. (2010). Relationship between abnormal pupillary reactivity and the outcome of a psychotropic drug overdose. *The American Journal of Emergency Medicine*, 28(6), 703-707. doi:10.1016/j.ajem.2009.03.012
- Yim, H. J., & Gonzales, R. A. (2000). Ethanol-induced increases in dopamine extracellular concentration in rat nucleus accumbens are accounted for by increased release and not uptake inhibition. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 22(2), 107-115.
- Yoda, T., Crawshaw, L. I., Saito, K., Nakamura, M., Nagashima, K., & Kanosue, K. (2008). Effects of alcohol on autonomic responses and thermal sensation during cold exposure in humans. *Alcohol*, 42(3), 207-212. doi:10.1016/j.alcohol.2008.01.006
- Yoshimoto, S., Imai, H., Kashino, M., & Takeuchi, T. (2014). Pupil Response and the Subliminal Mere Exposure Effect. *PloS one*, 9(2), e90670. doi:10.1371/journal.pone.0090670
- Yoshitomi, T., Matsui, T., Tanakadate, A., & Ishikawa, S. (1999). Comparison of threshold visual perimetry and objective pupil perimetry in clinical patients. *Journal of neuro-ophthalmology*, 19(2), 89-99.
- Young, R. S. L., Han, B.-C., & Wu, P.-Y. (1993). Transient and sustained components of the pupillary responses evoked by luminance and color. *Vision Research*, 33(4), 437-446. doi:10.1016/0042-6989(93)90251-Q
- Young, R. S. L., & Kennish, J. (1993). Transient and sustained components of the pupil response evoked by achromatic spatial patterns. *Vision Research*, 33(16), 2239-2252. doi:10.1016/0042-6989(93)90103-4
- Yu, S., Wang, Y., Li, X., Zhou, Y., & Leventhal, A. G. (2006). Functional degradation of extrastriate visual cortex in senescent rhesus monkeys. *Neuroscience*, 140(3), 1023-1029. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.01.015
- Zhu, D., Moore, S. T., & Raphan, T. (1999). Robust pupil center detection using a curvature algorithm. *Computer methods and programs in biomedicine*, 59(3), 145-157.

12 ANEXOS

12.1 INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA



Hospital Universitario
de Getafe

Comunidad de Madrid

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D. RICARDO SANZ FERNÁNDEZ, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Getafe

CERTIFICA:

Que este Comité en su reunión del día 28 de Septiembre de 2011 (A15-11) ha evaluado la documentación presentada para la realización del Proyecto titulado: *"Efecto del alcohol sobre el diámetro pupilar mesópico en respuesta a estímulos de diferente longitud de onda"*.

y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del Protocolo en relación con los objetivos del Estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del Investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el Proyecto

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado por la Dra. Rosario Díez del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario de Getafe, como investigadora principal.

Lo que firmo en Getafe, a 28 de Septiembre de 2011.

Fdo: D. Ricardo Sanz Fernández
Presidente del CEIC
Hospital Universitario de Getafe.



Hospital Universitario
de Getafe
Comité Ético de
Investigación Clínica

EST: 11/68

D. Ricardo Sanz Fernández, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Getafe.

HACE CONSTAR QUE:

Que la composición del CEIC, en la reunión en la que fueron evaluadas las respuestas a las aclaraciones solicitadas correspondientes al Proyecto titulado: **"Efecto del alcohol sobre el diámetro pupilar mesópico en respuesta a estímulos de diferente longitud de onda"**.

es la siguiente:

D. RICARDO SANZ FERNANDEZ Miembro del Comité de Investigación. Jefe de Servicio de Otorrinolaringología	Presidente del CEIC
D. ALFONSO MONEREO ALONSO Médico con labor asistencial: Sº de Medicina Interna	Vicepresidente
D. JOSE ANGEL LORENTE BALANZA Miembro del Comité de Investigación. Médico con labor Asistencial: Servicio de U.C.I.	Secretario
D. MANUEL FREIRE MAGARIÑOS Director Médico	Vocal
Dª. MARTA RUIZ ALGUERO Farmacóloga Clínica	Vocal
Dª. ROCÍO ÁLVAREZ NIDO Especialista Medicina de Familia y Comunitaria	Vocal
Dª. Mª ISABEL CARRIÓN BOLAÑOS Dirección de Enfermería	Vocal
Dª. Mª TERESA MOLINA GARCÍA Farmacéutica del Hospital	Vocal
D. MIGUEL ANGEL RAMIRO AVILÉS Miembro del Comité de Ética Asistencial Doctor en Derecho	Vocal
Dª. VANESA MORENTE PARRA Licenciada en Derecho	Vocal
Dª. ANA ROSA SOLORZANO MARTIN Farmacéutica Atención Primaria	Vocal
D. FERNANDO GARCÍA NAVARRETE Jefe del Servicio de Traumatología	Vocal
D. ENRIQUE CERDÁ CERDÁ Jefe Sº UCI Hospital Infanta Cristina-Parla	Vocal
D. JOAQUIN DE HARO MIRALLES Médico con labor asistencia: Sº Cirugía Vascular	Vocal

EST: 11/68

D ^a . BELÉN RIQUELME GARCÍA Licenciada en Económicas	Vocal
D ^a . IRENE CUADRADO PEREZ Medico con labor asistencial, Sº Pediatría	Vocal
D ^a . ANA M ^a JIMENEZ GORDO Médico con labor asistencia, Sº Oncología	Vocal
D ^a . OLGA LAOSA ZAFRA Farmacóloga Clínica	Vocal
D ^a . M ^a PAZ ALCALDE CASTELLANOS Secretaría Técnica	

Para que conste donde proceda a petición del Promotor.

Getafe, a 28 de Septiembre de 2011.



Fdo.: Ricardo Sanz Fernández
PRESIDENTE DEL CEIC

12.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Hoja de consentimiento informado del sujeto a examen (copia investigador)



HOJA INFORMATIVA DEL SUJETO EXAMINADO EN EL ESTUDIO DE LA “Pupilometría dinámica en la exploración y diagnóstico de las enfermedades neurodegenerativas”

Yo,..... consiento la realización de la prueba del **reflejo pupilar a la Luz**, análisis totalmente inocuo y no-invasivo. Consiento en igual medida el registro de los videos pupilares con objeto de un posterior análisis que incluye tamaño pupilar, tiempo de reacción, tamaño de respuesta, etc.

Se me ha subrayado la posibilidad de cancelar en cualquier momento mi participación en la prueba, pues ésta es totalmente voluntaria. En el caso de que me negase a realizar o a continuar la prueba, nadie podría obligarme, ni de ahí se extraería ningún tipo de consecuencia negativa.

Por tanto, por medio del presente documento, consiento expresamente que los datos resultantes de la prueba antes citada puedan ser utilizados en trabajos de investigación.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmado en Madrid, a

Fdo. participante:

Fdo. investigador:

Hoja de consentimiento informado del sujeto a examen (copia participante)



HOJA INFORMATIVA DEL SUJETO EXAMINADO EN EL ESTUDIO DE LA
“Pupilometría dinámica en la exploración y diagnóstico de las enfermedades
neurodegenerativas”

Yo,..... consiento la realización de la prueba del **reflejo pupilar a la Luz**, análisis totalmente inocuo y no-invasivo. Consiento en igual medida el registro de los videos pupilares con objeto de un posterior análisis que incluye tamaño pupilar, tiempo de reacción, tamaño de respuesta, etc.

Se me ha subrayado la posibilidad de cancelar en cualquier momento mi participación en la prueba, pues ésta es totalmente voluntaria. En el caso de que me negase a realizar o a continuar la prueba, nadie podría obligarme, ni de ahí se extraería ningún tipo de consecuencia negativa.

Por tanto, por medio del presente documento, consiento expresamente que los datos resultantes de la prueba antes citada puedan ser utilizados en trabajos de investigación.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmado en Madrid, a

Fdo. participante:

Fdo. investigador:

12.3 ESPECIFICACIONES POWER REFRACTOR II

7 Specifications

eye-vision technology

Measurements

Refraction	binocular and monocular
Spherical range	+5/-7 dpt in 0.25 dpt steps ± 0.25 dpt
Pupil size	4 - 8 mm in 0.1 mm steps ± 0.3 mm
Pupil distance	mm in 1mm steps ± 5 %
Time per measurement	0,04 s
Measuring distance	1 m
Fixation target	Sound and LEDs
Measurement principal	dynamic binocular photostiascopy

Interfaces and standards

Interfaces	USB, IEEE1394a (Firewire) and Audio
Printers	Windows compatible
Standards	EN 60601-1

Power

Medical Power Adapter MES30B-3P1J	in: 110-240VAC (50 - 60Hz), 0.8A out: 12VDC 2.5A
plusoptiX S04 power consumption:	12VDC, 1A max.

Environmental requirements

Temperature	operating	10 to 35 °C (50 to 92 °F)
	storage	0 to 50 °C (32 to 122 °F)
Humidity	operating	20 - 80 % not condensing
	storage	10 - 85 % not condensing

Packaging

Size of carton	51 x 41 x 20 cm (20 x 16 x 8 inches)		
Weight	S04 device	2.6 Kg	(5.7 LB)
	Carton	1.3 Kg	(2.6 LB)
	Total	3.9 Kg	(7.9 LB)

12.4 CUESTIONARIO ANAMNESIS



CUESTIONARIO PREVIO PUPILOMETRÍA

Datos personales:

Fecha nacimiento: _____

Sexo: _____

Motivo experimento: _____

Otras observaciones: _____

¿Ha consumido café, alcohol o nicotina en las últimas dos horas?: _____

Datos médicos:

Consumo de medicamentos: _____

Enfermedades orgánicas (diabetes, insuficiencia renal, hepática, malignidad, hipotiroidismo no controlado, etc.): _____

Datos oculares:

¿Sufre alguna enfermedad ocular?: _____

¿Ha tenido alguna operación de LASIK o cataratas?: _____

¿Utiliza gafas o lentillas? (tipo y compensación): _____

Datos procedentes de la investigación:

Puntuación Ishihara: _____

Número de Historia: _____

Se establecen dos claves para Historia Clínica con objeto de tener identificado al participante. Las dos habrán de reflejarse en este cuestionario previo:

En primer lugar, se ubica la clave numérica que corresponde al día, mes y año de registro pupilar (dd-mm-aaaa) asociado al número de cita pupilométrica (1 si se cita a las 12.00h; 2 si se cita a las 12.45h y 3 si se cita a las 13.30h).

En segundo lugar, la clave mixta se entiende como las letras iniciales en mayúscula del primer nombre, y primer y segundo apellidos y, a continuación, el año de nacimiento.

De esa manera, José María Merino García, citado el día 3 de febrero de 2013 a las 12.45h, sería, en clave numérica 03-02-2013-2, y en clave mixta sería: JMG1945.

12.5 CUADERNO DE CARGA CABANILLAS SOFTWARE

The screenshot shows the 'Pupilometro' software window. At the top, there's a file path 'C:\tmplucm\1607\uis_05_gafas_02-R05-20100716-170641.csv', patient name 'Iuis', and filter '05'. Below this, there are two main columns for 'Ojo R - OD' and 'Ojo L - OI'. Each column contains a list of measurements with their values. To the right, there are fields for 'Anisocoria (Midriasis media) (mm)' and 'Anisocoria (Constriccion) (mm)'. A large text area on the right displays processing statistics. At the bottom right, there are several buttons for charting, exporting, and saving data.

	Ojo R - OD	Ojo L - OI
Latencia Inicial(ms)	120	120
Amplitud(mm)	1,796	1,909
Latencia Final(ms)	720	880
Amplitud Rebote(mm)	5,836	6,172
% Oscilaciones	33	34
% Nulos	0	0
Vec.Constricc(mm/ms)	0,002993	0,002512
Midriasis Media(mm)	6,518	6,598
Midriasis Máxima(mm)	6,846	6,959
Midriasis Mínima(mm)	0	0
Redilatacion(ms)	4,680	4,160
Vec.Redilatacion(mm/ms)	0,000385	0,000480
Redilatacion Máx(mm)	6,621	6,846

Statistics displayed in the text area:

- Nº Registros no Procesados L: 3 0 %
- Nº Registros : 455
- Tiempo de Medida : 18 segundos.
- *****C:\tmplucm\1607\uis_05_gafas_02-R05-20100716-170641.csv*****
- Nº Registros no Procesados R: 3 0 %
- Nº Registros no Procesados L: 3 0 %
- Nº Registros : 455
- Tiempo de Medida : 18 segundos.
- *****C:\tmplucm\1607\uis_05_gafas_02-R05-20100716-170641.csv*****
- Nº Registros no Procesados R: 3 0 %
- Nº Registros no Procesados L: 3 0 %
- Nº Registros : 455
- Tiempo de Medida : 18 segundos.

Buttons at the bottom right:

- Chart-Dim
- Chart-Dim-R
- Analizar
- Chart-Veloc
- Agrupar
- Chart-Acelera
- Exportar csv
- Chart Dim %
- Salvar xml
- Configuracion
- Pacientes
- Salir

Hardware y Software realizados

Pupil2.1, es un parseador e interfaz de usuario exclusivo para analizar las medidas generadas por el sistema **PowerRef II** de Plusoptix.

La parte lógica esta realizada en java y la gráfica en swing, con jdk1.6.0_24.

El sistema parseador pupil2.1, convierte el texto de entrada, ficheros CSV en este caso, en una estructura vectorial muy útil para su posterior análisis. El método algorítmico de recorrido de datos es *backtraking*, así, analizamos los posibles caminos en la búsqueda de medidas optimas rechazando los datos no candidatos. Entendemos, como datos no candidatos, medidas nulas o ruido.

Consideramos como ruido, aquellas medidas consecutivas, donde, el aumento y disminución del movimiento de la pupila no altera el diámetro pupilar.

El api utilizado para parsear los ficheros csv ha sido: javacsv.jar

El api utilizado para generar los chart ha sido: jfreechar-1.0.13.jar

Los apis utilizados para generar los ficheros xml resultado ha sido: jdom.jar y xmlparserv2.jar

El hardware realizado para comunicar el flash con el puerto paralelo del PC y así poder capturar el instante en el que se produce el estímulo luminoso ha sido la programación en ensamblador en un microcontrolador PIC16F630-I/SL de Microchip Technology, sobre una placa universal. El ID utilizado ha sido MPLAB.



Medidas

- Latencia Inicial(ms): algoritmo que calcula la diferencia entre el instante donde se produce el estímulo luminoso y el tiempo donde se detecta una clara disminución de la pupila, para encontrar este tiempo ha sido necesario realizar varias funciones de análisis y eliminación de ruido. Como ya hemos señalado anteriormente, la estrategia han sido algoritmos backtracking.

- Amplitud (mm): algoritmo que recorre los vectores de datos, partiendo del estímulo luminoso, en busca del diámetro pupilar más pequeño.

- Latencia Final (ms): algoritmo que calcula la diferencia entre el tiempo de máxima amplitud e instante donde se produce el estímulo luminoso.

- Amplitud Rebote (mm): algoritmo que obtiene el diámetro resultante en la desaceleración de la pupila después de la máxima amplitud.

- Velocidad Constricción: Aplicamos la fórmula $V=E/T$, donde E es igual a la diferencia entre los diámetros de amplitud inicial y latencia y T es igual, a la diferencia entre los tiempos de amplitud y latencia inicial.

- Midriasis Media: Diámetro pupilar medio entre el inicio de la medida y el estímulo.

- Midriasis Máxima: Diámetro pupilar máximo entre el inicio de la medida y el estímulo.

- Midriasis Mínima: Diámetro pupilar mínimo entre el inicio de la medida y el estímulo.

- Redilatación (ms): Diferencia de tiempo entre la amplitud y el instante en el que la pupila alcanza el diámetro de la midriasis media.

- Vec. Redilatación: Aplicamos la fórmula $V=E/T$, donde E es igual a la redilatación y T es igual al tiempo es la diferencia entre redilatación y amplitud.

- Redilatación Máxima: Máximo diámetro pupilar tomado después del rebote.

- Anisocoria (Midriasis media): Diferencia de diámetros pupilares (R-L) en midriasis media.

- Anisocoria (Constricción): Diferencia de diámetros pupilares (R-L) en amplitud.